

TABLE DES MATIÈRES

(Y. D. : partie rédigée par Yvon DOMMERGUES)

(F. M. : partie rédigée par François MANGENOT)

<i>Préface</i>	VII
<i>Introduction</i>	1
 PREMIÈRE PARTIE. — <i>Les éléments constitutifs de la microflore tellurique</i>	 7
CHAPITRE I. — <i>Les Bactéries</i> (Y. D.)	9
Eubactériales <i>sensu lato</i>	9
Chlamydo bactériales ou Bactéries ferrugineuses filamenteuses	19
Beggiatoales ou Bactéries sulfureuses filamenteuses	20
Myxobactériales	20
CHAPITRE II. — <i>Les Actinomycètes</i> (Y. D.)	23
CHAPITRE III. — <i>Les Champignons</i> (F. M.)	29
Aperçu systématique	29
Levures du sol	33
Les Champignons filamenteux	36
CHAPITRE IV. — <i>Les Algues</i> (F. M.)	48
Aperçu systématique	49
Numérations, biomasses	52
Influence des facteurs écologiques	53
Les relations entre Algues et Végétaux supérieurs	59
Répartition	59
Rôle des Algues	61
CHAPITRE V. — <i>Les Protozoaires</i> (Y. D.)	63
CHAPITRE VI. — <i>Les Virus</i> (Y. D.)	70

VISIT...

LANZAROTE
Caliente.COM

DEUXIÈME PARTIE. — <i>Influence de la microflore sur le milieu édaphique</i>	73
CHAPITRE I. — <i>Les enzymes du sol</i> (Y. D.)	74
Mise en évidence et mesure de l'activité enzymatique du sol	74
Origine des enzymes du sol	81
Etat des enzymes dans le sol	85
Facteurs écologiques régissant la répartition et l'activité des enzymes dans le sol	87
Rôle des enzymes dans le sol et signification des mesures de l'activité enzymatique	89
CHAPITRE II. — <i>Le cycle du carbone</i> (F. M.)	92
Généralités	92
Dégagement de gaz carbonique	96
Métabolisme des sources de carbone	98
Les glucides	98
Les substances aromatiques	131
Les constituants hydrophobes	151
CHAPITRE III. — <i>Cycle de l'azote</i> (Y. D.)	155
Fixation non symbiotique de l'azote moléculaire	158
L'ammonification	188
La nitrification	198
Le cycle interne de l'azote dans le sol	211
La dénitrification biologique	219
Gains et pertes d'azote d'origine biologique et non biologique	228
CHAPITRE IV. — <i>Transformations microbiennes du soufre</i> (Y. D.)	233
Minéralisation du soufre organique	235
Immobilisation du soufre minéral	238
Oxydation des composés minéraux du soufre ou sulfo-oxydation	240
La réduction des composés minéraux du soufre	250
Bilan du soufre dans le sol	257
CHAPITRE V. — <i>Transformations microbiennes du phosphore</i> (Y. D.)	259
Solubilisation microbienne des phosphates	261
Minéralisation microbienne du phosphore organique	265
Immobilisation microbienne du phosphore minéral	269
CHAPITRE VI. — <i>Transformations microbiennes du fer</i> (Y. D.)	271
Principales transformations de nature biologique	271

Rôle des micro-organismes dans les processus de réduction, de solubilisation et de précipitation du fer dans quelques types pédologiques	277
Importance relative des processus biologiques et non biologiques	279
CHAPITRE VII. — <i>Les transformations microbiennes du potassium et du manganèse</i> (Y. D.)	280
Transformations microbiennes du potassium	280
Transformations microbiennes du manganèse	282
CHAPITRE VIII. — <i>Les complexes organo-métalliques</i> (Y. D.)	289
CHAPITRE IX. — <i>Humification et déshumification</i> (F. M.)	298
Le concept d'humus	298
Aperçu chimique	302
Biochimie de l'humification	305
Les matières premières	311
La déshumification	322
Bilan de la matière organique	326
Facteurs de l'humification	333
CHAPITRE X. — <i>Modifications d'origine microbienne de la composition de l'atmosphère du sol et du potentiel d'oxydo-réduction</i> (Y. D.)	345
CHAPITRE XI. — <i>Thermogénèse microbienne</i> (Y. D.)	347
CHAPITRE XII. — <i>Modifications du pH d'origine microbienne</i> (Y. D.)	349
CHAPITRE XIII. — <i>Rôle des micro-organismes dans la genèse et dégradation de la structure</i> (Y. D.)	354
Rappel des notions de structure et de stabilité structurale	354
Mise en évidence de l'aggrégation d'origine microbienne	356
Micro-organismes responsables de l'aggrégation	357
Les mécanismes de l'aggrégation microbienne	359
Facteurs influant sur la genèse et la dégradation microbienne de la structure	367
Cinétique de l'aggrégation	371
Anomalies structurales d'origine biologique	372
Annexe (rôle de la microfaune dans l'édification de la structure)	373
TROISIÈME PARTIE. — <i>Influence du milieu édaphique sur la microflore</i>	375
CHAPITRE I. — <i>Les éléments minéraux en tant qu'agents toxiques</i> (Y. D.)	377
Biologie des sols salés	377

Toxicité aluminique	381
Toxicité manganique	382
CHAPITRE II. — <i>Le facteur pH</i> (Y. D.)	384
CHAPITRE III. — <i>Le facteur eau</i> (Y. D.)	393
Rappel de quelques concepts fondamentaux	394
Comportement de la microflore tellurique aux très fortes humidités : biologie des sols hydromorphes	398
Comportement de la microflore tellurique aux humidités moyennes	409
Comportement de la microflore tellurique aux faibles humidités	412
Comportement de la microflore tellurique pendant et après dessiccation	415
Hygropériodisme	422
L'eau en tant qu'agent de transport de composés minéraux et organiques ou de micro-organismes	424
CHAPITRE IV. — <i>Aération du sol</i> (Y. D.)	426
CHAPITRE V. — <i>Le facteur température</i> (Y. D.)	438
CHAPITRE VI. — <i>Le facteur lumière</i> (Y. D.)	452
CHAPITRE VII. — <i>Le facteur texture : rôle des argiles</i> (Y. D.)	456
Rappel concernant les argiles et leurs propriétés	456
Conséquences de l'adsorption de composés organiques	458
Conséquences de l'adhésion des micro-organismes	467
Conséquences du pouvoir tampon des argiles	469
Conséquences de l'abaissement du pH à proximité des particules argileuses	470
Conséquences de l'adsorption et de la fixation de l'ion NH_4^+	472
Autres effets encore non ou mal élucidés	472
Influence des fractions non argileuses sur l'activité microbienne du sol	475
CHAPITRE VIII. — <i>Le facteur structure</i> (Y. D.)	476
Microbiologie de l'agrégat	476
Microbiologie de l'édifice structural	483
CHAPITRE IX. — <i>Variations saisonnières</i> (Y. D. et F. M.)	484
CHAPITRE X. — <i>Distribution des micro-organismes et des enzymes</i> (Y. D.)	488
CHAPITRE XI. — <i>Les traitements pesticides</i> (F. M.)	498
Les traitements chimiques	498

Les traitements physiques	511
La recolonisation	521
 QUATRIÈME PARTIE. — <i>Interactions entre la microflore tellurique et la végétation</i>	529
CHAPITRE I. — <i>Interactions entre la microflore tellurique et la végétation au niveau des litières</i> (Y. D.)	531
CHAPITRE II. — <i>Spermosphère et phyllosphère</i> (F. M.)	538
X CHAPITRE III. — <i>La rhizosphère</i> (Y. D.)	548
Méthode d'étude de la rhizosphère	549
Influence de la plante sur les micro-organismes	551
Influence des micro-organismes sur la plante	565
Interactions entre micro-organismes rhizosphériques	575
Facteurs extérieurs influant sur l'effet rhizosphérique	578
Engrais bactériens : bactérisation des non-Légumineuses	586
CHAPITRE IV. — <i>La symbiose Rhizobium-Légumineuse</i> (Y. D.)	595
Mise en évidence de la fixation symbiotique d'azote chez les Légumineuses	596
Premier élément de l'association : la Légumineuse-hôte	597
Deuxième élément de l'association : le <i>Rhizobium</i>	598
L'infection des racines et la nodulation	605
Fixation de l'azote	614
Facteurs extrinsèques influant sur la fixation symbiotique	620
Inoculation (ou bactérisation) des Légumineuses	628
CHAPITRE V. — <i>Symbioses fixatrices en dehors des Légumineuses</i> (F. M.)	635
CHAPITRE VI. — <i>Les associations mycorrhiziennes</i> (F. M.)	656
 CINQUIÈME PARTIE. — <i>Les interactions entre micro-organismes telluriques</i>	677
CHAPITRE I. — <i>Les associations synergiques entre les divers éléments de la microflore</i> (Y. D.)	679
Généralités, principaux modes d'associations synergiques	679
Associations synergiques fixatrices d'azote	682
Autres associations synergiques	684
Influence des conditions écologiques sur les interactions de nature synergique	687

CHAPITRE II. — <i>Les antagonismes entre les divers éléments de la microflore (Y. D.)</i>	689
Manifestations des processus d'antagonisme dans les sols	689
Modifications de la composition de l'atmosphère, du pH et du Eh	695
Compétition	696
Production de substances inhibitrices ou toxiques	701
Prédation et parasitisme	708
Application au contrôle biologique des micro-organismes pathogènes des racines	712
CHAPITRE III. — <i>Interactions de la microflore et de la faune du sol (F. M.)</i>	721
Interactions des Nématodes et de la microflore	722
La mésofaune	727
Les Vers de terre	729
Les Termites	731
Autres Insectes	734
Conclusion	735
CHAPITRE IV. — <i>Successions, chaînes et groupes microfloristiques (Y. D.)</i>	737
Notion de succession	737
Notion de chaîne ou séquence	741
Notion de groupe écologique microfloristique	742
<i>Bibliographie</i>	745
<i>Index alphabétique des matières</i>	783

MASSON ET C^{ie}, ÉDITEURS

120, boulevard Saint-Germain, Paris (VI^e)

Dépôt légal : 2^e trimestre 1970

MARCA REGISTRADA

IMPRIMÉ EN BELGIQUE

PAR GEORGES THONE À LIÈGE

YVON DOMMERGUES

Directeur de Recherche
au C. N. R. S.

FRANÇOIS MANGENOT

Professeur à la Faculté des Sciences
de Nancy

ÉCOLOGIE MICROBIENNE DU SOL

180 FIGURES, 101 TABLEAUX

MASSON ET C^{ie}, ÉDITEURS
120, boulevard Saint-Germain, PARIS VI^e

1970

INTRODUCTION

L'ÉCOLOGIE MICROBIENNE a pour objet l'étude des interrelations entre les micro-organismes et les composantes de l'écosystème où ils vivent. Un écosystème est le système limité dans l'espace constitué par l'ensemble des communautés d'*êtres vivants* qui s'y trouvent et par l'ensemble des conditions énergétiques, physiques, chimiques et biologiques qui règnent au voisinage immédiat de ces êtres vivants (environnement)⁽¹⁾. Le terme d'écosystème peut être appliqué à des ensembles d'extension et de complexité variables : une culture microbienne constitue un microécosystème simple, un océan un macroécosystème complexe.

L'*écologie microbienne* du sol, qui est une branche de l'écologie microbienne générale, a essentiellement pour objet l'étude des interactions qui, dans le cadre des écosystèmes sol-végétation, se manifestent entre les communautés microbiennes et les composantes de l'écosystème sol-végétation :

- interactions entre les communautés microbiennes et le sol (considéré comme milieu organique et minéral) : interactions A_1A_2 ;
- interactions entre les communautés microbiennes et la végétation : interactions B_1B_2 ;
- interactions entre les communautés microbiennes : interactions C_1C_2 ⁽²⁾ (fig. 1).

(1) Un environnement identique dans un volume donné constitue un *habitat*.

(2) Les interactions entre le sol et la végétation (D_1D_2) n'intéressent le biologiste du sol qu'accessoirement ; nous y ferons simplement allusion lorsque la nécessité s'en fera sentir.

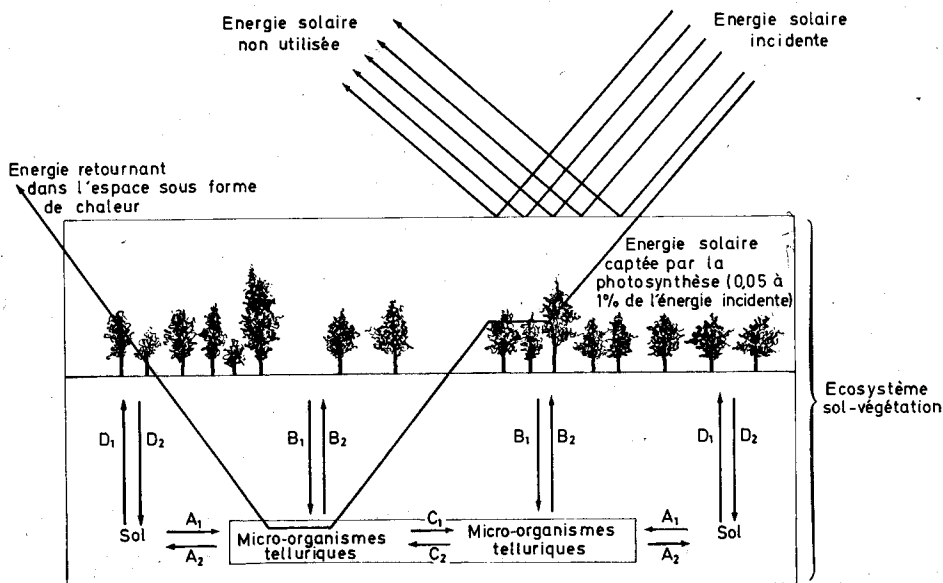


FIG. 1. — Rôle des micro-organismes dans l'écosystème sol-végétation. Les micro-organismes telluriques interviennent (1) en tant qu'agents actifs ou passifs dans les systèmes d'interactions qui se manifestent entre le sol (considéré comme milieu physico-chimique), la végétation et eux-mêmes (interactions A_1A_2 ; B_1B_2 ; C_1C_2); (2) en tant qu'agents principaux du retour dans l'espace de l'énergie captée par la photosynthèse.

Il s'agit là de problèmes complexes, puisqu'ils concernent des écosystèmes renfermant non seulement des communautés microbiennes, mais aussi des communautés animales et végétales vivant dans un environnement particulier caractérisé par des paramètres très nombreux, eux-mêmes interdépendants : l'environnement édaphique (de *ἔδαφος*, sol). Aussi est-on amené à faire porter les recherches sur des modèles simplifiés comportant en général une seule « espèce » microbienne ; on désigne souvent les recherches de ce type sous le nom de recherches *autécologiques* ⁽¹⁾. Les modèles simplifiés

(1) D'après GUITTET (1967) : « La distinction entre « autécologie » et « synécologie » fut faite à propos des plantes par C. SCHRÖTER en 1902. Pour cet auteur, l'autécologie traite des relations entre un individu et le milieu, alors que la synécologie englobe à la fois la description des communautés végétales (structure, composition, distribution) et l'étude des rapports entre ces communautés et le milieu. »

sont étudiées à l'échelle moléculaire, à l'échelle cellulaire ou à l'échelle des micropopulations pures :

1° par recherches à l'échelle moléculaire, nous entendons les recherches concernant l'influence inductive, répressive ou inhibitrice des paramètres écologiques sur la synthèse des enzymes microbiennes, par exemple : répression par l'oxygène de la synthèse de la nitrate-réductase ;

2° par recherches à l'échelle cellulaire, nous entendons les recherches portant sur les interactions entre les paramètres écologiques et les cellules vivantes considérées isolément, par exemple : influence sur l'activité respiratoire de l'adsorption des cellules d'*Azotobacter* sp. sur des particules électronégatives ;

3° par recherches à l'échelle des micropopulations pures, nous entendons les recherches portant sur des ensembles de micro-organismes appartenant à une même « espèce » dont on étudie le développement en colonie, la croissance globale, la génétique, par exemple : influence de composés à structure phénolique sur la croissance d'une micropopulation de *Bacillus megaterium*.

Comme l'on peut toujours craindre que les résultats obtenus à partir des modèles simplifiés que nous venons d'évoquer donnent une image inexacte ou déformée des processus se déroulant effectivement dans le sol, il est nécessaire de compléter les recherches autécologiques par des recherches *synécologiques*, c'est-à-dire des recherches portant sur des modèles plus complexes où interviennent plusieurs espèces microbiennes (voir par exemple TRIBE et WILLIAMS, 1967) et surtout sur le sol lui-même au laboratoire ou *in situ*, en l'absence ou en présence de végétaux supérieurs. Il peut paraître, à première vue, illogique de chercher à établir les lois régissant l'activité des communautés microbiennes telluriques dans des écosystèmes aussi complexes, alors que l'on connaît encore imparfaitement celles qui concernent les micropopulations pures. En fait, l'expérience montre que le comportement des communautés microbiennes telluriques dans le sol est loin d'être anarchique : il suit des règles précises de même nature que celles que l'on a mises en évidence pour les communautés végétales. On sait, par exemple, que les communautés microbiennes telluriques présentent une stabilité remarquable dans leur structure fondamentale et dans leur équilibre interne ; c'est cette loi de stabilité interne qui explique le fait qu'il est pratiquement impossible d'introduire dans un sol un micro-organisme exogène si l'on ne modifie pas, au préalable, certains facteurs de l'environnement édaphique.

Les exemples que nous venons de donner pour illustrer les différentes façons d'aborder l'écologie microbienne pourraient faire croire que cette science est orientée uniquement vers l'étude de l'influence des facteurs de l'environnement sur la microflore ; il n'en est rien : l'écologie microbienne s'intéresse aussi à l'influence des micro-organismes sur les caractéristiques des environnements (le pH ou le Eh par exemple).

Le développement de nos connaissances en biologie du sol a été longtemps retardé, non seulement par le fait que les réactions microbiennes de dégradation et de synthèse sont beaucoup plus complexes que les réactions physiques ou chimiques et qu'il est beaucoup plus difficile de les isoler et de les reproduire expérimentalement au laboratoire, mais aussi par le fait que, pendant de très nombreuses années, on a donné priorité aux recherches autécologiques en négligeant les recherches synécologiques et en oubliant que les communautés microbiennes font partie intégrante de l'écosystème sol-plante. C'est pourquoi il nous a paru nécessaire de présenter ici les processus microbiologiques se déroulant dans le sol, surtout sous leur aspect synécologique, en insistant, chaque fois que possible, sur les interrelations entre les micro-organismes telluriques et la végétation.

Il ne faut, en effet, jamais perdre de vue que les micro-organismes telluriques et les plantes sont étroitement interdépendants. Les micro-organismes telluriques — qui sont en grande majorité des hétérotrophes — reçoivent l'énergie dont ils ont besoin des organismes photosynthétiques — plantes vertes essentiellement — qui mettent à leur disposition leurs produits de photosynthèse sous forme de résidus dont l'ensemble est souvent désigné sous le terme de matière organique fraîche. Une fois incorporée au sol, la matière organique fraîche est finalement oxydée par les micro-organismes telluriques jusqu'au stade gaz carbonique et eau avec libération d'éléments minéraux. Si les micro-organismes n'intervenaient pas dans l'écosystème sol-végétation, les composés carbonés photosynthétisés s'accumuleraient et on aboutirait à un blocage sous forme organique de la réserve planétaire de gaz carbonique et à un épuisement rapide des réserves minérales, d'où arrêt de toute vie végétale à la surface du

globé] Comme le souligne M. J. JOHNSON (1967), les manuels classiques de biologie et de biochimie font généralement une large place au rôle des animaux dans les phénomènes d'oxydation des produits de la photosynthèse, mais négligent le rôle des micro-organismes ; or, ces derniers sont responsables de 80 à 90 % de l'oxydation biologique totale !

Originalité des problèmes posés par l'écologie microbienne du sol

L'écologie microbienne du sol est essentiellement orientée vers l'étude du comportement de *micropopulations complexes* et, en cela, elle se rapproche de la microbiologie des eaux, des vases et boues, de la microbiologie alimentaire. Mais elle diffère de ces différentes disciplines, car le milieu où se développent les micro-organismes telluriques présente des caractéristiques particulières dont certaines lui sont propres :

1° La plus remarquable consiste certainement dans un *cloisonnement du milieu en une multitude de microhabitats* où les conditions écologiques peuvent, à un moment donné, être très différentes les unes des autres : il en résulte une microhétérogénéité dont les conséquences sont parfois inattendues (cf. p. 497).

2° Le *support organique et minéral que constitue le sol est loin d'être inerte*. On verra, par exemple, que les produits de métabolisme microbien peuvent être *stabilisés*, c'est-à-dire soustraits provisoirement aux processus de biodégradation par adsorption sur les colloïdes minéraux ou organiques. Les divers processus physiques, chimiques et biologiques qui se déroulent dans le sol sont d'ailleurs souvent si intimement intriqués qu'il faut faire appel à des artifices expérimentaux pour les dissocier.

3° L'*énergie* nécessaire au développement des micro-organismes hétérotrophes qui constituent la plus grande partie des micropopulations telluriques, provient presque exclusivement de la photosynthèse végétale. On conçoit, dans ces conditions, toute l'importance que revêt, en microbiologie du sol, l'étude du *facteur végétation* qui, malheureusement, a souvent été trop négligé dans le passé.

4° On notera enfin que, dans le sol, une *microfaune* ou une *mésafaune* parfois très actives interviennent à côté de la microflore et que se manifestent alors des interactions complexes dont l'étude est encore à peine ébauchée.

Intérêt pratique des recherches en écologie microbienne du sol

Sur le plan *agronomique*, les recherches de microbiologie écologique sont déjà ou promettent d'être particulièrement fécondes dans le domaine de la fixation symbiotique de l'azote non seulement chez les Légumineuses, mais aussi chez les non-Légumineuses, notamment en région tropicale, dans le domaine de la protection phytosanitaire des cultures, dans le domaine de la stabilisation de la structure et de la constitution ou de la conservation du stock humique dans les sols.

En *pédologie*, l'écologie microbienne du sol est appelée à rendre de grands services, notamment dans les recherches sur les processus d'altération des roches et des minéraux des sols et sur les processus de migration des différents éléments.

Sur le plan *médical*, on commence à découvrir les possibilités offertes par l'écologie microbienne du sol en ce qui concerne les problèmes de conservation et de transport des souches pathogènes ; en outre, on sera amené de plus en plus souvent à consulter le biologiste du sol pour résoudre les problèmes soulevés par la pollution du milieu naturel résultant de l'accumulation de produits synthétiques non biodégradables (pesticides, par exemple).

Le sol constitue enfin pour l'Homme une *réserve de micro-organismes* dont il devra, à l'avenir, domestiquer un nombre croissant d'espèces en vue de satisfaire ses besoins en molécules simples (telles que les acides acétique ou citrique) et surtout en molécules complexes (vitamines, hormones, antibiotiques, enzymes, acides aminés essentiels). L'alimentation d'une population humaine sans cesse croissante, exige donc impérieusement le développement de nos connaissances, non seulement sur l'écologie des végétaux supérieurs, mais aussi sur l'écologie des micro-organismes telluriques.

PREMIÈRE PARTIE

**LES ÉLÉMENTS CONSTITUTIFS
DE LA
MICROFLORE TELLURIQUE**

CHAPITRE PREMIER

LES BACTÉRIES

Sous le terme de Bactéries, nous entendons ici :

1° les *Eubactériaes sensu lato* ⁽¹⁾, qui se subdivisent en deux ordres : les *Pseudomonadales* et les *Eubactériaes sensu stricto* ;

2° les Protistes inférieurs, que l'on range habituellement à côté des *Eubactériaes*, à savoir :

- les Chlamydo-bactériaes ou Bactéries ferrugineuses filamenteuses ;
- les Beggiatoales ou Bactéries sulfureuses filamenteuses ;
- les Myxobactériaes.

Nous laissons de côté certains ordres tels que celui des *Rickettsiales*, qui est constitué de parasites obligatoires et qui ne présente aucun intérêt en microbiologie du sol, ou, tels que celui des *Spirochaetales*, qui — bien que représenté par des formes submicroscopiques dans le sol (NIKITIN, 1965) — y joue un rôle assez effacé.

A. — EUBACTÉRIALES *SENSU LATO*

Contrairement à la microflore fongique, qui a fait l'objet d'inventaires très nombreux et souvent détaillés, la microflore bactérienne du sol est mal connue sur le plan taxonomique, la plupart des recherches ayant porté sur l'évaluation de l'abondance et de l'activité des groupes nutritionnels ou physiologiques (cf. p. 14). Sur les 1 600 espèces bactériennes qui sont décrites dans le manuel de BERGEY (BREED et coll., 1957), 250 seulement auraient été isolées du sol ; si l'on ajoute les espèces habitant les vases ou associées aux débris végétaux dans le sol, on peut admettre que le sol renferme au moins 800 espèces bactériennes (BURGES, 1965a) auxquelles il faut ajouter de nombreuses espèces encore

(1) Appelées aussi *Eubactéries*.

TABLEAU I. — CLASSIFICATION DES EUBACTÉRIALES *sensu lato*

A. — Ordre des PSEUDOMONADALES

Bâtonnets droits, courbes ou à forme hélicoïdale ; habituellement avec flagelles polaires à l'une ou aux deux extrémités ; tous Gram négatifs

GROUPE	FAMILLES	PRINCIPAUX CARACTÈRES DISTINCTIFS	PRINCIPAUX GENRES VIVANT DANS LE SOL
<i>Pseudomonadales phototrophes</i> (Bactéries photo-synthétiques)	THIORHODACÉES ATHIORHODACÉES CHLOROBACTÉRIACÉES		(cf. p. 453)
<i>Pseudomonadales chimolithotrophes</i> (Sauf exceptions)	NITRO-BACTÉRIACÉES	Bâtonnets ; chimolithotrophes tirant leur énergie de l'oxydation : — de l'ammoniac en nitrite : Bactéries nitrosantes — du nitrite en nitrate : Bactéries nitrifiantes	<i>Nitrosomonas</i> <i>Nitrobacter</i>
	THIO-BACTÉRIACÉES	Bâtonnets droits ; chimolithotrophes tirant leur énergie de l'oxydation du soufre élémentaire ou des composés minéraux réduits du soufre	<i>Thiobacillus</i>
	MÉTHANO-MONADACÉES	Bâtonnets ; chimolithotrophes tirant leur énergie de l'oxydation : — de l'hydrogène — de l'oxyde de carbone — du méthane	<i>Hydrogenomonas</i> ^(a) <i>Carboxydomonas</i> <i>Methanomonas</i> ^(b)
	CAULO-BACTÉRIACÉES et SIDÉROCAPSACÉES	Bactéries appartenant au groupe des <i>Ferrobactéries</i> et oxydant le fer ferreux en fer ferrique ; parfois chimolithotrophes obligatoires, plus souvent chimolithotrophes facultatifs et chimio-organotrophes	(cf. p. 273)

(a) On range souvent arbitrairement dans cette catégorie divers *Pseudomonas* oxydant facultativement l'hydrogène mais préférant, en général, se développer aux dépens de composés organiques.

(b) Les Bactéries oxydant le méthane ne sont pas des chimolithotrophes au sens strict car le méthane est un composé organique ; mais leur métabolisme rappelle celui des chimolithotrophes.

TABLEAU I. — (suite)

GROUPE	FAMILLES	PRINCIPAUX CARACTÈRES DISTINCTIFS	PRINCIPAUX GENRES VIVANT DANS LE SOL
<i>Pseudomonadales</i> <i>chimio-organotrophes</i>	PSEUDO-MONADACÉES	Bâtonnets droits ; aérobies et produisant souvent des pigments hydrosolubles, qui diffusent dans le milieu, ou non hydrosolubles	<i>Pseudomonas</i> <i>Xanthomonas</i> <i>Acetobacter</i> <i>Azotomonas</i>
	SPIRILLACÉES	Aérobies Bâtonnets courbes ou en hélice, formant souvent des chaînettes Forme en virgule Bâtonnets courbes, longs et minces, cellulolytiques Bâtonnets courts, cellulolytiques	<i>Vibrio</i> <i>Cellvibrio</i> <i>Cellfalcicula</i>
		Anaérobies Bâtonnets courbes, anaérobies stricts, tirant leur énergie du couplage de l'oxydation (d'ailleurs incomplète) de certains substrats organiques et parfois d'hydrogène gazeux avec la réduction des sulfates en hydrogène sulfuré Longues cellules hélicoïdales	<i>Desulfovibrio</i> <i>Spirillum</i>

inconnues mais dont la mise en évidence pourra s'accélérer grâce à l'emploi de nouveaux milieux (ARISTOVSKAYA, 1963), de la microscopie électronique classique (NIKITIN, 1965) et de la microscopie électronique à balayage (fig. 79).

1° Classification taxonomique

La classification simplifiée des Eubactériales que nous avons adoptée ici et qui est inspirée du système de BERGEY est présentée dans le tableau I, d'où nous avons exclu les familles ou les genres inexistants ou rares dans les sols.

TABLEAU I. — (suite)

B. — Ordre des EUBACTÉRIALES *sensu stricto*

Cellules sphériques ou en bâtonnets droits ; lorsqu'elles sont mobiles, elles sont dotées de flagelles péritriches ; pas de pigments photosynthétiques ; prennent facilement les colorants d'aniline ; ne sont pas acido-résistantes

FAMILLES	PRINCIPAUX CARACTÈRES DISTINCTIFS	PRINCIPAUX GENRES VIVANT DANS LE SOL
AZOTOBACTÉRIACÉES	Gram négatifs Bactéries aérobies fixant l'azote moléculaire en présence de substrat carboné	<i>Azotobacter</i> <i>Beijerinckia</i> <i>Derxia</i>
RHIZOBACTÉRIACÉES	Bâtonnets généralement Gram négatifs — symbiotiques (Légumineuses) aérobies — saprophytes anaérobies facultatifs et produisant des pigments violets — saprophytes ou parasites, anaérobies facultatifs, ne produisant pas de pigments	<i>Rhizobium</i> <i>Chromobacterium</i> <i>Agrobacterium</i>
ACHROMO-BACTÉRIACÉES	Bâtonnets Gram négatifs, à faible pouvoir fermentaire vis-à-vis des hydrates de carbone — ne produisant pas de pigment — produisant des pigments jaunes ou orange	<i>Achromobacter</i> <i>Flavobacterium</i>
ENTÉROBACTÉRIACÉES	Bâtonnets Gram négatifs, aérobies ou anaérobies facultatifs, fermentant activement les hydrates de carbone	<i>Escherichia</i> <i>Proteus</i> <i>Aerobacter</i> <i>Serratia</i>
MICROCOCCACÉES	Cocci sphériques Gram positifs — cellules en paquets irréguliers ou en tétrades produisant quelquefois des pigments jaunes, orange ou rouges — cellules en paquets cubiques (division dans trois plans perpendiculaires)	<i>Micrococcus</i> <i>Sarcina</i>
BRÉVIBACTÉRIACÉES	Bâtonnets Gram positifs, quelquefois morphologie coccoïde ou filamenteuse ; souvent pigmentés ; aérobies ou anaérobies facultatifs	<i>Brevibacterium</i>

TABLEAU I. -- (suite)

FAMILLES	PRINCIPAUX CARACTÈRES DISTINCTIFS	PRINCIPAUX GENRES VIVANT DANS LE SOL
LACTOBACILLACÉES	Gram positifs, effectuant une fermentation lactique des sucres ; microaérophiles à anaérobies — cocci en chaînettes (division dans un seul plan) — bâtonnets droits et minces	<i>Streptococcus</i> <i>Leuconostoc</i> <i>Lactobacillus</i>
CORYNÉBACTÉRIACÉES	Bâtonnets Gram positifs à morphologie irrégulière ; cellules souvent disposées en rangées parallèles ou apposées en V en raison d'un type de division particulier ; surtout aérobies ; pouvoir fermentaire souvent médiocre ; présentant une certaine parenté avec les Mycobactériacées	<i>Corynebacterium</i> <i>Cellulomonas</i> <i>Arthrobacter</i>
BACILLACÉES	Principale famille formant des endospores ; gros bâtonnets droits Gram positifs ; souvent mobiles — aérobies, spores ovales dont le diamètre est inférieur à celui de la cellule végétative (<i>B. megaterium</i> ; <i>B. cereus</i> ; <i>B. subtilis</i> ; <i>B. licheniformis</i>) ou supérieur (<i>B. macerans</i> , <i>B. polymyxa</i>) ou spores sphériques (<i>B. pasteurii</i>) — anaérobies stricts, cellules en général déformées par la spore qui peut être terminale ou subterminale, sphérique ou ovale ; de nombreuses espèces fixent l'azote atmosphérique	<i>Bacillus</i> <i>Clostridium</i>

Les différents genres sont très inégalement représentés dans les divers types pédo-logiques. Parmi les Bactéries qui dominent souvent, on signalera plus particulièrement les *Pseudomonas* (ALEXANDER, 1961), les Bactéries sporulantes et notamment les *Bacillus* (HOLDING et coll., 1965), les Bactéries corynéformes et notamment les *Arthrobacter* (CLARK, 1967 ; TRIBE et WILLIAMS, 1967). Sont relativement bien représentés les genres : *Clostridium*, *Achromobacter*, *Micrococcus*, *Xanthomonas*, *Chromobacterium*, *Sarcina*. Les micro-organismes impliqués dans la fixation de l'azote (par ex. : *Rhizobium*, *Clostridium*, *Azotobacter*, *Azotomonas*) et surtout ceux qui interviennent dans la nitrification (*Nitrosomonas*, *Nitrobacter*) représentent, dans bien des cas, une faible

fraction⁽¹⁾ de l'ensemble des populations bactériennes (BURGES, 1965a) ; elles n'en jouent pas moins un rôle très important.

2° Classification nutritionnelle

On a distingué depuis longtemps chez les Eubactériales, comme chez les autres micro-organismes, deux grandes catégories nutritionnelles :

1° Eubactériales autotrophes, Bactéries se développant uniquement à partir de composés minéraux ;

2° Eubactériales hétérotrophes, Bactéries ayant besoin de composés organiques en plus de certains composés minéraux.

Ce critère simple de l'autotrophie s'est révélé insuffisant pour servir de base à une classification nutritionnelle fine. Aussi a-t-on fait appel à deux autres critères : 1° nature de la source d'énergie (énergie des radiations lumineuses ou énergie des réactions d'oxydo-réduction) ; 2° nature organique ou minérale du donneur d'électrons. En combinant ces deux critères, on aboutit à la classification nutritionnelle en quatre catégories synthétisée dans le tableau II, où figurent non seulement les Eubactériales, mais aussi les autres organismes vivants. Si l'on se cantonne aux Eubactériales, on peut distinguer :

a) *Les Eubactériales photolithotrophes*, qui sont des Bactéries photosynthétiques (tirant leur énergie des radiations lumineuses) utilisant comme donneurs d'électrons des substrats minéraux oxydables, essentiellement des sulfures. A cette catégorie appartiennent les Thiorhodacées et les Chlorobactériacées (cf. p. 245).

b) *Les Eubactériales photo-organotrophes*, qui sont des Bactéries photosynthétiques (tirant leur énergie des radiations lumineuses) utilisant comme donneurs d'électrons des substrats organiques oxydables, tels que l'acide acétique. A cette catégorie appartiennent les Athiorhodacées (cf. p. 453).

c) *Les Eubactériales chimiolithotrophes* ⁽²⁾, qui tirent leur énergie de réactions d'oxydo-réduction et utilisent comme donneurs d'électrons l'un ou l'autre des quatre types de substrats minéraux oxydables suivants : composés azotés réduits (Bactéries nitrifiantes), composés soufrés réduits (Bactéries sulfo-oxydantes), fer ferreux (Ferrobactéries), hydrogène gazeux (Bactéries hydrogéné-oxydantes). La plupart de ces Bactéries sont capables d'utiliser le CO₂ ou les carbonates comme seule source de carbone (tableau III).

d) *Les Eubactériales chimio-organotrophes*, qui tirent leur énergie de réactions d'oxydo-réduction et utilisent comme donneurs d'électrons des composés organiques. Ces Bactéries sont des hétérotrophes typiques.

(1) Si l'on admet la validité des méthodes de numération actuelles.

(2) On dit aussi *chémolithotrophes*.

TABEAU II. — CLASSIFICATION NUTRITIONNELLE
d'après la source d'énergie et la nature organique
ou minérale des donneurs d'électrons exogènes

	Donneur d'électrons minéral LITHOTROPHES	Donneur d'électrons organique ORGANOTROPHES
Energie électromagnétique PHOTOTROPHES	PHOTOLITHOTROPHES Plantes vertes Algues Bactéries sulfureuses pourpres (Thiorhodacées) Bactéries sulfureuses vertes (Chlorobactériacées) <i>Exemple. — Réaction de pho-</i> <i>tosynthèse :</i> $\text{CO}_2 + 2 \text{H}_2\text{O} \rightarrow$ $\rightarrow (\text{CH}_2\text{O}) + \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$ (le donneur d'électrons est H_2O)	PHOTO-ORGANOTROPHES Bactéries pourpres non sulfu- reuses (Athiorhodacées)
Energie chimique CHIMIOTROPHES	CHIMILITHOTROPHES Bactéries nitrifiantes Bactéries sulfo-oxydantes Ferrobactéries Bactéries hydrogéo-oxydantes <i>Exemple. — Réaction de nitrifi-</i> <i>cation :</i> $\text{NH}_4^+ + \frac{3}{2} \text{O}_2 \rightarrow \text{NO}_2^- +$ $+ \text{H}_2\text{O} + 2 \text{H}^+$ (le donneur d'électrons est NH_4^+ ; l'accepteur d'électrons est O_2)	CHIMIO-ORGANOTROPHES Animaux Végétaux non chlorophylliens Micro-organismes hétérotrophes <i>Réaction générale :</i> $\text{DH}_2 + \text{A} \rightarrow \text{D} + \text{AH}_2$ (DH ₂ et D sont les états initial et final du donneur d'électrons organique ; A et AH ₂ sont les formes oxydées et réduites de l'accepteur d'électrons)

Remarque. — Suivant la nature des accepteurs finals d'électrons, on distingue chez les chimiotrophes trois sous-types de métabolismes :

- a) *la respiration* : l'accepteur final d'électrons est l'oxygène ;
 b) *la respiration anaérobie* : l'accepteur final d'électrons est un composé minéral autre que l'oxygène (nitrate, sulfate, par exemple) ;
 c) *la fermentation* : l'accepteur final d'électrons est un composé organique.

Cette classification est insuffisante pour les besoins de la bactériologie du sol, car elle aboutit à la séparation des micro-organismes telluriques en quatre types nutritionnels très inégalement représentés dans le sol : les Bactéries appartenant aux deux premiers types y sont rares ; les Bactéries appartenant au troisième type sont relative-

TABLEAU III. — EXEMPLES DE BACTÉRIES CHIMIO-LITHOTROPHES
(FROMAGEOT et SENEZ, 1960)

BACTÉRIES	DON-NEURS D'ÉLEC-TRONS	ACCEP-TEURS D'ÉLEC-TRONS	RÉACTIONS	PRODUITS FINALS DE LA RÉACTION	
				A partir du donneur d'élec-trons	A partir de l'ac-cepteur d'élec-trons
<i>Nitrosomonas</i> sp.	NH_4^+	O_2	$\text{NH}_4^+ + \frac{3}{2} \text{O}_2 \rightarrow \text{NO}_2^- + \text{H}_2\text{O} + 2 \text{H}^+$	NO_2^-	H_2O
<i>Nitrobacter</i> sp.	NO_2^-	O_2	$\text{NO}_2^- + \frac{1}{2} \text{O}_2 \rightarrow \text{NO}_3^-$	NO_3^-	H_2O
<i>Thiobacillus thiooxidans</i>	S	O_2	$\text{S} + \frac{3}{2} \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}_2\text{SO}_4$	SO_4^{--}	H_2O
<i>Thiobacillus denitrificans</i> (anaérobie)	$\text{S}_2\text{O}_3^{--}$	NO_3^-	$5 \text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 + 8 \text{KNO}_3 + 2 \text{NaHCO}_3 \rightarrow 6 \text{Na}_2\text{SO}_4 + 4 \text{K}_2\text{SO}_4 + 4 \text{N}_2 + 2 \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$	SO_4^{--}	N_2
<i>Thiobacillus ferrooxidans</i>	$\text{S}_2\text{O}_3^{--}$ ou Fe^{++}	O_2	$\text{Fe}^{++} \rightarrow \text{Fe}^{+++} + \text{e}$	SO_4^{--} ; Fe^{+++}	H_2O
<i>Hydrogenomonas</i> sp.	H_2	O_2	$\text{H}_2 + \frac{1}{2} \text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O}$	H_2O	H_2O
<i>Desulfovibrio desulfuricans</i> (anaérobie)	H_2	SO_4^{--}	$\text{SO}_4^{--} + 4 \text{H}_2 \rightarrow \text{S}^{--} + 4 \text{H}_2\text{O}$	H_2O	H_2S

ment peu abondantes, mais y jouent un rôle important, alors que les Bactéries du quatrième type constituent la majorité des micro-organismes telluriques. Pour distinguer les Bactéries de la dernière catégorie (Bactéries chimio-organotrophes), on se fonde sur leurs exigences vis-à-vis des facteurs de croissance. Rappelons que par facteur de croissance — ou *substance probiotique* (cf. p. 681) — on entend tout métabolite qu'un micro-organisme donné, dit auxotrophe, ne peut synthétiser, mais qui est indispensable en tant que matière première pour la synthèse des matériaux cellulaires. Les facteurs de croissance peuvent être classés en trois groupes :

- 1° acides aminés, métabolites utilisés pour la synthèse des protéines ;
- 2° purines et pyrimidines, métabolites utilisés pour la synthèse des acides nucléiques ;
- 3° vitamines, co-enzymes ou constituants des co-enzymes.

Les Bactéries chimio-organotrophes du sol présentent des pouvoirs de synthèse très variables, que l'on peut mettre en évidence en utilisant un certain nombre de milieux de complexité croissante. LOCHHEAD (1943), qui fut avec CHASE le promoteur de ce type de recherche, préconise l'utilisation des sept milieux suivants :

1° Milieu de base (milieu M) renfermant uniquement un substrat énergétique (glucose) et des sels minéraux, sur lequel se développent seulement les micro-organismes à pouvoir de synthèse élevé ;

2° Milieu M + acides aminés de l'hydrolysate de caséine ;

3° Milieu M + vitamines du complexe B ;

4° Milieu M + acides aminés + vitamines du complexe B ;

5° Milieu M + facteurs de croissance apportés par l'extrait de Levure ;

6° Milieu M + facteurs de croissance indéterminés apportés par l'extrait de terre ;

7° Milieu M + extrait de Levure + extrait de terre, sur lequel se développent les Bactéries les plus exigeantes.

Pour déterminer le pourcentage de Bactéries appartenant aux sept groupes correspondant à ces sept milieux, on isole 100 ou 200 souches au hasard sur des géloses à l'extrait de terre ensemencées avec le sol à étudier et l'on teste la croissance de chacune d'entre elles sur les différents milieux. On a proposé plusieurs simplifications amenant à une réduction du nombre de groupes nutritionnels de 7 à 5 et même à 3 (BURGES, 1958 ; RIVIÈRE, 1961). Un exemple d'application de cette classification à l'étude des micro-organismes telluriques sera donné au chapitre consacré à la rhizosphère.

3° Classification en groupes physiologiques

Par *groupe physiologique* — on dit aussi *groupe écologique* — on entend un ensemble de Bactéries qui, bien que taxonomiquement très hétérogènes, présentent toutes la même aptitude à se développer dans un environnement bien précis et à y mener à bien le même type de réaction biochimique. Cette classification a été et est encore très largement utilisée pour la description des paysages bactériens dans le sol. Il existe un nombre considérable de milieux permettant de mettre en évidence des groupes physiologiques intervenant dans les différents cycles biologiques.

Nous donnerons ici, à titre indicatif, une liste très succincte des groupes les plus fréquemment étudiés (ALLEN, 1957 ; POCHON et TARDIEUX, 1962) :

Cycle de l'azote

- groupe des fixateurs d'azote en aérobiose,
- groupe des fixateurs d'azote en anaérobiose,
- groupe des protéolytiques,
- groupe des ammonificateurs,
- groupe des nitrificateurs,
- groupe des dénitrificateurs ;

Cycle du carbone

- groupe des amylolytiques,
- groupe des pectinolytiques,
- groupe des hémicellulolytiques,
- groupe des cellulolytiques aérobies,
- groupe des cellulolytiques anaérobies ;

Cycle du soufre

- groupe des sulfato-réducteurs,
- groupe des sulfo-oxydants,
- groupe des minéralisateurs du soufre organique ;

Cycle du fer

- groupe des minéralisateurs des complexes organo-ferriques.

4° Densité et biomasse bactérienne dans les sols

La densité bactérienne dans les sols — déterminée à partir des méthodes classiques de dilution et comptage sur milieux de cultures liquides ou solides — oscille entre 10^6 , 10^9 et même 10^{10} unités/g de sol. Par microscopie directe, les densités observées sont 300 à 1 000 fois plus élevées. En admettant une densité de 10^9 cellules bactériennes/g de sol, la biomasse correspondante est de l'ordre de 2 500 kg/ha. En effet, en supposant que la masse spécifique des cellules bactériennes fraîches est de 1,0 environ et que leur volume moyen est de $1 \mu^3$, chaque gramme de sol renferme : $1 \mu^3 \times 1 \times 10^{-12} \times 10^9 \text{ g} = 1 \times 10^{-3} \text{ g}$ de cellules bactériennes. Si l'on considère d'autre part qu'à une parcelle d'une superficie de 1 ha correspond un poids de terre biologiquement active de l'ordre de 2 500 t, on trouve par ha 2 500 kg de Bactéries.

Il s'agit là d'un chiffre moyen puisque les estimations de la biomasse bactérienne varient de 330 kg à 7 000 kg/ha suivant les cas, les chiffres les plus élevés ayant été signalés dans les sols cultivés en Légumineuses. On admet que la biomasse bactérienne est, en général, sensiblement inférieure à celle des Champignons bien que la densité des Bactéries soit environ 100 fois plus élevée que celle des Champignons ; la biomasse des Bactéries est du même ordre de grandeur que celle des Actinomycètes bien que la densité de ces derniers micro-organismes soit environ 10 fois plus faible. Dans la plupart des cas, la biomasse des Bactéries dépasse la biomasse des Algues, Protozoaires et Nématodes réunis (CLARK, 1967). Dans les sols soumis à des conditions écologiques très dures (régions arctiques, régions arides), les densités bactériennes sont évidemment beaucoup plus faibles ; mais elles tombent rarement au-dessous de 10^4 à 10^5 dans les horizons superficiels.

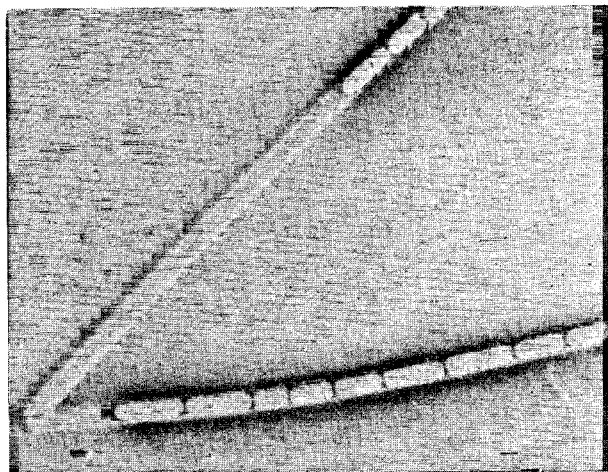
Bien que le sol n'apparaisse pas à première vue comme un milieu exceptionnellement favorable à la prolifération des Bactéries, on y a souvent mis en évidence des densités (voir, par exemple, le tableau LXXX) comparables à celles que l'on observe dans des milieux apparemment plus propices, tels fumiers, déjections animales (où les

densités sont de l'ordre de 10^{10} à 10^{11} Bactéries par gramme). On peut donc penser, si l'on se fonde sur le critère numérique, que le sol est susceptible de constituer un excellent environnement pour les Bactéries (CLARK, 1967).

B. — CHLAMYDOBACTÉRIALES OU BACTÉRIES FERRUGINEUSES FILAMENTEUSES

Sur le plan morphologique, les Chlamydobactériales ressemblent beaucoup aux Eubactériales, dont elles diffèrent par la présence d'une gaine, fourreau à paroi lisse qui entoure les cellules en chaînes (fig. 2). Ce fourreau se colore en jaune rouille sous l'influence de l'oxydation du fer ferreux contenu dans le milieu ; cette coloration est plus foncée lorsque des sels de manganèse interviennent.

FIG. 2. — *Sphaerotilus* sp., Bactérie ferrugineuse filamenteuse, dont les cellules se présentent sous forme de chaînes entourées d'une gaine à paroi lisse (STOKES, in STANIER et coll., 1966).



La systématique des Chlamydobactériales sera présentée en même temps que celle des Caulobactériacées et des Sidérocapsacées, avec lesquelles on les groupe habituellement sous le vocable de Ferrobactéries en raison de la ressemblance de leur physiologie et de leur écologie. Il s'agit de micro-organismes essentiellement aquatiques, particulièrement répandus dans certaines sources, dans des eaux et boues de marais ou d'étang, où elles oxydent le fer ferreux en hydroxyde ferrique. Le rôle des Chlamydobactériales dans les sols sera examiné à propos de l'étude du cycle du fer.



FIG. 3. — *Beggiatoa* sp., Bactérie sulfureuse filamenteuse oxydant l'hydrogène sulfuré en soufre élémentaire. Le soufre s'accumule dans les filaments et leur donne une apparence caractéristique ($\times 1\ 000$) (ORDAL, in STANIER et coll., 1966).

C. — BEGGIATOALES OU BACTÉRIES SULFUREUSES FILAMENTEUSES

Il s'agit d'organismes filamenteux (fig. 3), capables de mouvements de glissement, tantôt rattachés aux Bactéries, tantôt rattachés aux Cyanophycées, dont ils se rapprochent par leur structure et dont ils diffèrent par l'absence de pigments (STANIER et coll., 1966). Leur habitat est sensiblement le même que celui des Chlamydo bactériales, avec lesquelles elles sont fréquemment associées ; elles en diffèrent par le fait qu'elles oxydent les formes réduites du soufre en soufre élémentaire puis en sulfate. On reviendra sur l'étude de ces micro-organismes au chapitre consacré au cycle du soufre.

D. — MYXOBACTÉRIALES

Très proches des Eubactériales, les Myxobactériales (*slime bacteria* des auteurs anglo-saxons) en diffèrent cependant par deux caractères : 1° leur mobilité très particulière qui n'est pas due à des flagelles (ces micro-organismes en sont dépourvus) mais

à une sorte de reptation au contact des surfaces solides ; 2° leur flexibilité due à la finesse de leur paroi cellulaire.

1° Base de la classification

Sur le plan du cycle végétatif, on distingue deux groupes de Myxobactéries :

1° **Myxobactéries avec fructifications et cellules de repos.** — Pendant la phase végétative, les cellules sont indépendantes ; mais à un certain moment, elles s'associent pour former des organes de fructification constitués de *microkystes*, petites cellules arrondies, qui sont des organes de repos. Parmi les genres les plus connus dans le sol, on citera les genres : *Myxococcus*, *Chondrococcus*, *Archangium*, *Polyangium*, *Sorangium*.

2° **Myxobactéries sans fructification ni cellules de repos.** — Elles sont pour la plupart spécialisées dans la cellulolyse et la chitinolyse. Elles sont représentées par le genre *Cytophaga* (fig. 4).

FIG. 4. — *Cytophaga* sp., Myxobactérie cellulolytique, attaquant une fibre de cellulose ($\times 450$)
(WINOGRADSKY, 1949).



2° Habitat

Les Myxobactéries fructifiantes se rencontrent fréquemment sur les excréments des animaux. La meilleure façon de les mettre en évidence consiste à inoculer un milieu gélosé avec une culture bactérienne puis à ensemercer avec un peu de sol : les fructifications caractéristiques se développent en une ou deux semaines ; cette technique est fondée sur l'aptitude qu'ont les Myxobactéries à tuer et digérer d'autres Bactéries et des Champignons. La vigueur de leur développement sur les excréments des animaux s'explique précisément par la présence dans ce substratum de très nombreuses Bactéries. Dans le sol, la densité des Myxobactéries est de l'ordre de 2 000 à 100 000 par gramme (SINGH, 1948). Les *Cytophaga*, en particulier, sont abondants sur tous les résidus cellulosiques.

3° Rôle dans le sol

Bien qu'on ignore encore le rôle des Myxobactéries fructifiantes dans le sol, on peut penser qu'il n'est pas négligeable, car ces micro-organismes excrètent des enzymes extrêmement actives vis-à-vis des Bactéries — notamment des Bactéries Gram négatives et non pigmentées —, des Champignons et même des Nématodes (SINGH, 1963 ; KATZNELSON et coll., 1964). Les Myxobactéries cellulolytiques interviennent activement dans la dégradation des substances carbonées.

CHAPITRE II

LES ACTINOMYCÈTES

On peut définir les Actinomycètes comme des Eubactéries Gram positives à structure végétative de type mycélien (STANIER et coll., 1966). Ces micro-organismes, en effet, présentent des similitudes à la fois avec les Eubactéries et avec les Champignons (fig. 5). Il existe d'ailleurs toute une série de formes de transition entre les formes mycéliennes typiques et les formes unicellulaires présentant une aptitude peu marquée à former un mycélium ramifié.

Les quatre caractères qui rapprochent les Actinomycètes des Champignons, et plus particulièrement des *Fungi imperfecti*, sont, d'après ALEXANDER (1961), les suivants :

1° structure mycélienne présentant des ramifications chez les Actinomycètes typiques, avec toutefois cette différence que les filaments ont un diamètre deux fois plus faible (0,5 à 1,2 μ) que ceux des Champignons, d'où le terme de pseudomycélium parfois employé pour désigner cette structure (PRÉVOT, 1961) ;

2° formation fréquente d'un mycélium aérien et de conidies ;

3° en culture, absence de la turbidité caractéristique des Bactéries unicellulaires et apparition d'amas de cellules ;

4° taux de croissance de type généralement cubique comme chez les Champignons et non exponentiel comme chez les Bactéries.

Les analogies entre les Champignons et les Actinomycètes sont en fait superficielles ; il s'agit d'une convergence de forme plutôt que d'une parenté génétique, car une différence fondamentale sépare les Actinomycètes et les Bactéries d'une part, des Champignons d'autre part. Les premiers présentent, en effet, une structure interne procaryote ⁽¹⁾, alors que les Champignons ont une structure eucaryote. D'autres caractères rapprochent encore les Actinomycètes et les Bactéries, ce sont :

(1) La cellule procaryote se distingue de la cellule eucaryote par le fait que le noyau n'est jamais séparé du cytoplasme par une membrane nucléaire. Les *Protistes inférieurs* ou *Protistes procaryotes* (Bactéries, Actinomycètes, Cyanophycées) se distinguent des *Protistes supérieurs* ou *Protistes eucaryotes* (Champignons, Protozoaires, Algues à l'exception des Cyanophycées) par leur appareil nucléaire primitif incomplet et sans cariocinèse vraie.

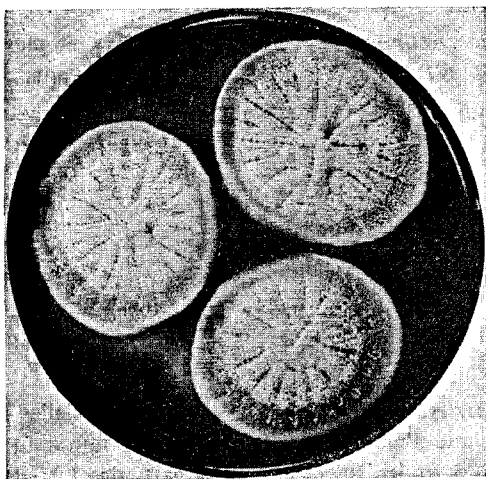
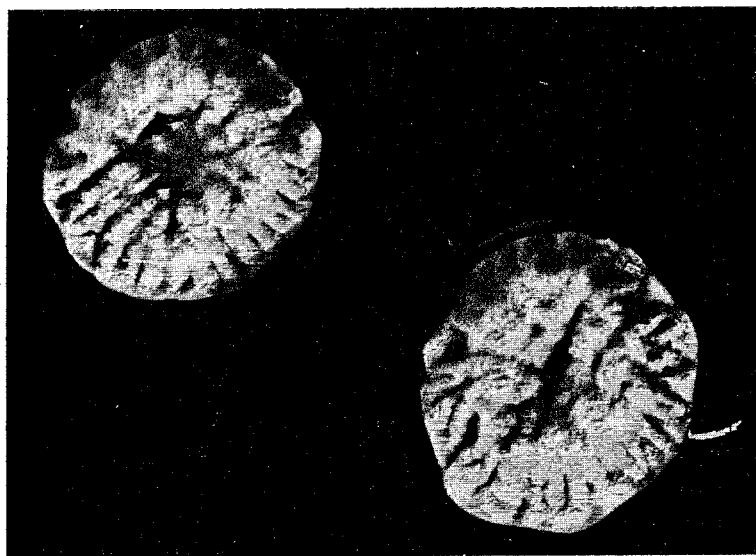


FIG. 5. — *Ci-dessus, colonies de Streptomyces et colonies de Penicillium, ci-contre.* On notera la convergence morphologique des colonies du Champignon et de l'Actinomycète (RAPER et HOPWOOD, in STANIER et coll., 1966).

1° la morphologie d'allure bactérienne des éléments qui se fragmentent chez les genres subissant une segmentation.

2° la morphologie typiquement bactérienne chez les formes simples (Mycobactériacées) ;

3° la sensibilité aux attaques virales.

La reproduction des Actinomycètes peut s'opérer suivant trois modes :

1° fragmentation pseudobactérienne ;

2° production de conidies (cellules reproductives sphériques ou ovoïdes résultant de la division d'extrémités hyphales) ;

3° production de sporanges (structures en forme de sacs renfermant les spores).

A. — CLASSIFICATION

On subdivise, en général, les Actinomycètes en quatre familles (tableau IV) :

1° *Mycobactériacées*

Elles renferment les Actinomycètes dont la morphologie est la plus voisine de celle des Bactéries : en effet, le mycélium qu'ils forment au début de leur développement se rompt rapidement pour libérer des bâtonnets qui sont d'ailleurs soit ramifiés soit irréguliers. Les *Mycobactériacées* présentent des affinités marquées avec les *Corynebactériacées* et le groupe des Bactéries produisant une fermentation lactique des sucres. Les *Mycobactériacées* se différencient de toutes les autres Bactéries et des autres Actinomycètes, à l'exception de certains *Nocardia*, par leur *acido-résistance* due à la présence dans leurs cellules de substances de nature cireuse : elles sont difficiles à colorer par les méthodes habituelles ; mais, une fois colorées, elles résistent à la décoloration par les acides minéraux dilués.

Cette famille est représentée par le seul genre *Mycobacterium*, qui renferme plusieurs espèces pathogènes, dont la plus connue est *Mycobacterium tuberculosis*, agent causal de la tuberculose ; mais il existe aussi des espèces non pathogènes dans le sol qui, d'après KRASILNIKOV (1958), joueraient un rôle actif dans la dégradation des protéines, des hydrates de carbone, des acides organiques et des alcools. On connaît des *Mycobacterium* oligonitrophiles et fixateurs d'azote atmosphérique (L'VOV et LYUBIMOV, 1965).

2° *Actinomycétacées (ou Proactinomycètes)*

Cette famille représentée par les genres *Nocardia* et *Actinomyces* occupe une position intermédiaire entre la première (*Mycobactériacées*, caractérisées par une structure bactérienne) et la troisième (*Streptomycétacées*, caractérisées par une structure pseudomycélienne).

Elle diffère d'une part de la première par sa croissance presque entièrement mycélienne avec toutefois une tendance variable à la segmentation, d'autre part de la troisième par l'absence de conidies.

Le genre *Nocardia* comprend de nombreuses espèces très répandues dans les

sols. Ces espèces se rapprochent des Mycobactériacées telluriques par leurs caractères physiologiques et morphologiques. Le mycélium végétatif qui existe dans les cultures très jeunes se fragmente très rapidement en éléments bacillaires. Les colonies, difficiles à distinguer des colonies bactériennes, sont souvent confondues avec ces dernières lors des comptages (ALEXANDER, 1961).

Le genre *Actinomyces* ne présente aucun intérêt en microbiologie du sol : il est constitué d'espèces anaérobies ou micro-aérophiles parasites.

TABLEAU IV. — LES PRINCIPAUX GENRES D'ACTINOMYCÈTES
(STANIER et coll., 1966)

FAMILLES	DÉVELOPPEMENT MYCÉLIEN	MODE DE REPRODUCTION	ACIDORÉSISTANCE	AUTRES CARACTÈRES	GENRES
MYCOBACTÉRIACÉES	Transitoire limité	Scission binaire	+		<i>Mycobacterium</i>
ACTINOMYCÉTACÉES (Proactinomycètes)	Extensif	Fragmentation massive des hyphes	+ —	Aérobies	<i>Nocardia</i>
	Extensif	Fragmentation massive des hyphes	—	Anaérobies	<i>Actinomyces</i>
STREPTOMYCÉTACÉES	Extensif	Conidies	—	Conidies en chaînettes	<i>Streptomyces</i>
	Extensif	Conidies	—	Conidies isolées ou en groupes	<i>Micro-monospora</i>
ACTINOPLANACÉES	Extensif	Sporangiospores mobiles	—	Formation de sporanges	<i>Actinoplanes</i>

3° Streptomycétacées

La structure mycélienne atteint chez cette famille son plein développement et y devient permanente. La reproduction se fait par l'intermédiaire de *conidies*. Le cycle du développement rappelle, pour cette raison, celui des Champignons.

Le genre *Streptomyces* est très répandu dans le sol, où il représente souvent de 70 à 90 % des Actinomycètes. Il se distingue du genre *Nocardia* par le fait qu'il possède un mycélium végétatif persistant quel que soit le stade de développement, et qu'il se repro-

duit par des conidies en chaîne. L'examen des colonies de *Streptomyces* permet de discerner :

1° le mycélium végétatif très serré, implanté dans le milieu auquel il adhère (leurs colonies sont difficiles à prélever au fil de platine) ;

2° le mycélium aérien, beaucoup plus lâche, d'aspect poudreux, formé d'hyphes souvent un peu plus épaisses et plus réfringentes, portant à leurs extrémités des conidies en chaînes.

Le genre *Micromonospora* est caractérisé par un développement discret ou même nul du mycélium aérien ; les conidies, isolées ou en grappes, sont portées directement par le mycélium végétatif ou y sont incluses. Les différentes espèces, qui sont, pour la plupart, thermophiles, se développent surtout dans les fumiers.

4° Actinoplanacées

Les espèces appartenant à cette famille se singularisent par le fait que leur cycle présente un stade *mobile* (sporangiospores mobiles). Le genre *Actinoplanes* est aquatique ; par son mycélium, il se rapproche du genre *Streptomyces*, dont il diffère par la formation de sporanges.

B. — RÔLE DANS LE SOL

Dans le sol, la densité des Actinomycètes (qui sont essentiellement représentés par les genres *Nocardia* et *Streptomyces*) est en général 3 à 15 fois plus faible que celle des Bactéries (cf. par exemple : DOMMERGUES et DUCHAUFOUR, 1966) ; en valeur absolue, elle oscille *grosso modo* entre 10^5 et 10^8 unités par g de sol. Cette densité montre une tendance nette à s'élever dans les sols alcalins et à décroître dans les sols submergés. La sobriété des Actinomycètes explique leur très grande extension : ils sont présents sous tous les climats, sur tous les types de résidus.

Pendant longtemps, on a considéré que leur rôle dans le sol était négligeable, à cause de la lenteur de leur croissance et de leur faible pouvoir compétitif. Il semble, au contraire, que leur action soit importante en raison de leur double aptitude :

1° Aptitude à dégrader les substances organiques non biodégradables par les Champignons et les Bactéries

La dégradation que subit la matière organique fraîche s'effectue progressivement ; les premiers stades correspondent à l'action des Bactéries et des Champignons ; les derniers correspondent à l'action des Actinomycètes. Ces micro-organismes ne peuvent se développer dans les premiers stades en raison de leur inaptitude à la compétition ; par contre, ils se développent relativement bien sur une matière organique partiellement

dégradée et inapte à porter une microflore fongique et bactérienne. KRASILNIKOV (1958) note à ce sujet qu'un fragment de tourbe inoculé avec des Actinomycètes est rapidement envahi par le pseudomycélium et que sa surface se recouvre d'un revêtement de mycélium aérien caractéristique de ces micro-organismes. En raison de leur aptitude à dégrader la chitine, de très nombreux Actinomycètes seraient capables de *décomposer les membranes des Champignons* et pourraient ainsi poursuivre la dégradation de la matière organique entreprise par la microflore fongique.

2° Aptitude à produire des substances probiotiques, antibiotiques ou toxiques

Parmi les *substances probiotiques* (cf. p. 681) produites par les Actinomycètes, KRASILNIKOV (1958) cite : les vitamines B₁, B₂, B₆, B₁₂, la biotine, l'acide folique. La synthèse des antibiotiques est largement répandue chez les Actinomycètes (50 à 75 % des souches isolées sont productrices d'antibiotiques, dont la streptomycine, la chlortétracycline, l'oxytétracycline, la cycloheximide). Nous verrons ultérieurement les conséquences de ces propriétés sur les interrelations entre micro-organismes. Certaines espèces synthétiseraient des *substances toxiques pour les plantes* ou, au contraire, *stimulant leur croissance*. On admet que les Actinomycètes pourraient aussi intervenir dans les processus d'humification en produisant des composés dont la structure chimique est proche de celle des acides humiques. Ainsi, *Streptomyces globisporus roseus* peut, à partir d'amidon, synthétiser des substances complexes à noyau aromatique, douées, comme les substances humiques, d'une capacité d'échange et constituant des pré-curseurs des acides humiques et fulviques (ALEKSANDROVA, 1962).

Il convient de signaler, en outre, que de nombreuses espèces répandent des odeurs caractéristiques (odeur de terre fraîchement labourée, de moisi, de camphre, de fruits) dont la nature chimique est mal connue mais qui commencent à être étudiées (PRAMER, 1968).

CHAPITRE III

LES CHAMPIGNONS

Introduction. — Au début de ce siècle, certains auteurs mettaient en doute l'existence même d'une flore fongique propre au sol. Selon eux, le développement de mycéliums sur les plaques de gélose nutritive ensemencées par des suspensions de terre prouvait simplement la présence de spores dormantes apportées au sol par les cadavres végétaux ou provenant de contaminations atmosphériques. L'existence d'une microflore tellurique, variable suivant les types de sol, de végétation, de climat, n'est plus discutable, mais son activité, sa biomasse et même sa composition exacte sont encore imparfaitement connues ; ceci résulte, comme nous le verrons, de l'inadaptation des méthodes dont nous disposons.

I. — APERÇU SYSTÉMATIQUE

Les Champignons comprennent l'ensemble des Thallophytes hétérotrophes et eucaryotes, c'est-à-dire possédant des noyaux du même type que les végétaux supérieurs et les animaux. Ceci les distingue radicalement des Bactéries et des Actinomycètes, procaryotes, dont la chromatine filamenteuse est pelotonnée en corps nucléaires disposés dans le cytoplasme.

Le plus souvent, l'appareil végétatif des Champignons est filamenteux : c'est un mycélium plurinucléé, pourvu ou non de cloisons transversales incomplètes.

La plupart des auteurs répartissent les Champignons en trois classes : celles des Phycomycètes, des Ascomycètes et des Basidiomycètes. Mais il vaut mieux subdiviser l'ensemble en quatre divisions (VON ARX, 1967) :

a) Les *Myxomycota* correspondant aux *Myxomycètes* possèdent pour thalle un plasmode nu ou un plasmode agrégé (= pseudoplasmode) qui, à maturité, se résout en spores de résistance groupées sur ou dans des sporanges — ou dans des cellules de l'hôte, chez les parasites — ; par germination, elles donnent naissance à des zoospores ou à des myxamibes.

Les Myxomycétales et les Acrasiales sont répandues dans les matières organiques en

décomposition et dans certains sols. Leur mode de nutrition, dans la mesure où nous le connaissons, n'est pas sans analogie avec celui des Protozoaires : certaines espèces tout au moins se nourrissent de Bactéries.

b) *Les Chytridiomycota*, qui se relient peut-être aux Flagellés, sont pour la plupart des organismes aquatiques ou des parasites, mais certaines espèces sont connues dans les sols humides. Ce sont des organismes de structure simple dont le thalle est tantôt limité à une vésicule portant un bouquet de rhizoïdes (Chytridiales), tantôt représenté par un mycélium médiocrement développé (Blastocladales, Monoblepharidales). Leur caractère commun est la présence de zoospores et de gamètes pourvus d'un seul flagelle postérieur. On citera *Rhizophlyctis rosea*, Chytridiale Rhizidiacée, connue pour ses propriétés cellulolytiques.

c) *Les Oomycota* correspondent aux *Oomycètes* classés autrefois parmi les Phycomycètes mais formant un groupe bien distinct en raison de la nature cellulosique de leurs parois, de leurs zoospores à flagelle antérieur ou à deux flagelles et de leur mode de reproduction oogame, par copulation d'un anthérozoïde et d'une oosphère volumineuse et immobile. Ils comprennent surtout des formes parasites telles que les agents des mildious ainsi que des saprophytes aquatiques. Mais les *Aphanomyces*, les *Pythium*, certains *Phytophthora* vivent normalement dans le sol à partir duquel ils peuvent attaquer, dans certaines conditions, les jeunes plantes (fig. 6A).

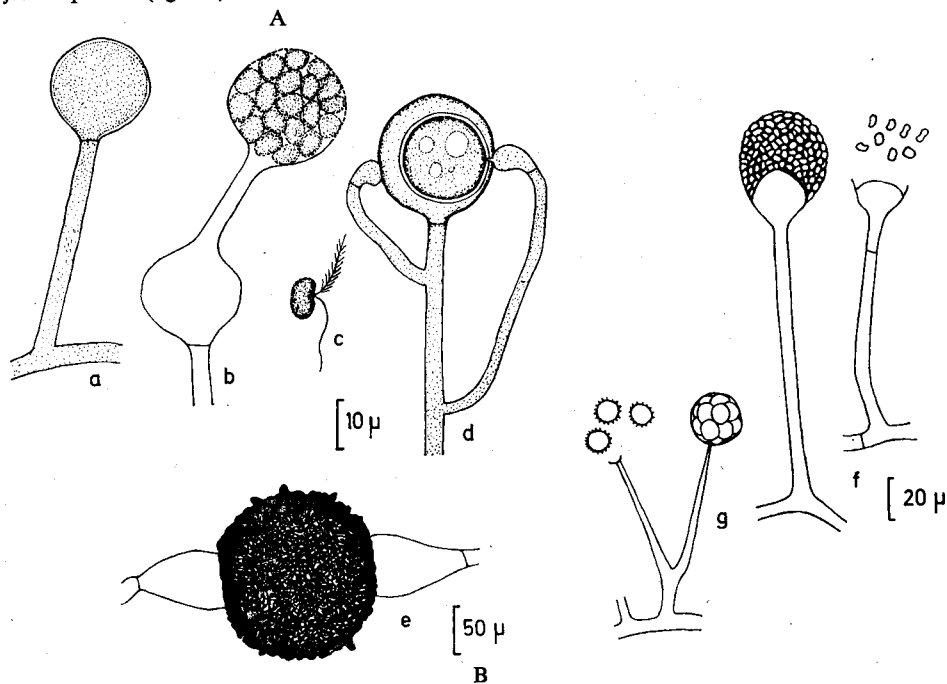


FIG. 6. — Champignons phycomycétoïdes du sol. A. Oomycètes : *Pythium debaryanum*, a, jeune sporange ; b, déhiscence du sporange ; c, zoospore ; d, oogone et anthéridie. B. Zygomycètes : *Mucor mucedo*, e, zygospore. *Absidia cylindrospora* ; f, sporange et spores. *Mortierella polycephala* ; g, sporange et spores (d'après VON ARX, 1967).

d) La majorité des Champignons du sol appartient aux *Eumycota* (étymologiquement : Champignons vrais). On y réunit les ZYGOMYCÈTES, précédemment classés parmi les Phycomycètes, les ASCOMYCÈTES et les BASIDIOMYCÈTES. Ces trois groupes sont caractérisés par la présence d'un mycélium vrai, à membrane renfermant de la chitine et non de la cellulose, et par l'absence d'organes reproducteurs ou propagateurs flagellés.

Chez les ZYGOMYCÈTES, le mycélium est cénocytique, c'est-à-dire que le thalle jeune est constitué d'une masse cytoplasmique plurinucléée contenue dans un système de tubes rameux sans cloisons transversales. Avec le temps, le mycélium s'allonge et se ramifie et, seules, les extrémités en croissance conservent un contenu vivant ; elles peuvent alors s'isoler des portions vides par des cloisons. Les Mucorales, si communes dans les sols, appartiennent à ce groupe et produisent des sporanges asexués de formes très variées et des œufs résultant de la copulation de deux articles plurinucléés (fig. 6B) ⁽¹⁾.

Les ASCOMYCÈTES possèdent un mycélium septé dont les cloisons transversales sont percées d'un pore de sorte que les articles successifs communiquent entre eux. Un certain nombre d'espèces produisent des organes de multiplication végétative que nous appellerons, dans un

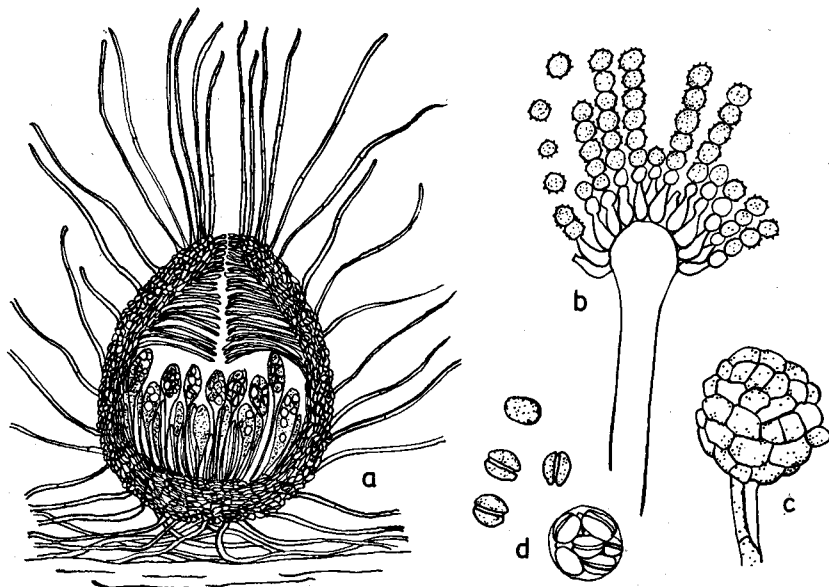


FIG. 7. — Ascomycètes. a, *Chaetomium globosum* : coupe d'un périthèce. b, c, d, *Eurotium amstelodami* : b, forme conidienne *Aspergillus* ; c, jeune périthèce ; d, asque et ascospores (d'après VON ARX, 1967).

⁽¹⁾ Zygomycètes et Oomycètes présentent le même type de mycélium cénocytique et ne peuvent se distinguer si l'on ne dispose pas de fructifications. Aussi désignerons-nous dans la suite de cet ouvrage sous le nom de Phycomycètes des organismes non identifiés et possédant ce type de mycélium non cloisonné.

but de simplification, des « conidies ». En général la copulation prend place dans une ébauche de fructification qui évolue ensuite en un fruit ou ascocarpe. A l'intérieur de ce dernier, des hyphes dicaryotiques, dites ascogènes, donnent naissance à des sporanges spéciaux, les asques, où se produisent la caryogamie et la méiose. Enfin s'organisent, dans l'asque, des ascospores haploïdes susceptibles de germer en reproduisant un nouveau thalle (fig. 7).

Les BASIDIOMYCÈTES s'en distinguent surtout par le fait que la copulation est beaucoup plus précoce de sorte que les mycéliums sont normalement dicaryotiques bien longtemps avant que se développent les fructifications. Il arrive alors, chez certaines espèces et dans certaines conditions, que ces mycéliums secondaires se reconnaissent à la présence de « boucles » situées au niveau des cloisons transversales. Les Basidiomycètes se reconnaissent à la forme de leurs sporanges ou basides : ces dernières sont le siège de la réduction chromatique, mais les spores haploïdes qui se forment ensuite sont renfermées dans des hernies disposées souvent en couronne au sommet de la baside (fig. 8). Les formes de multiplication asexuée sont peu fréquentes — du moins chez les espèces saprophytes — et ne semblent pas jouer de rôle propagateur important.

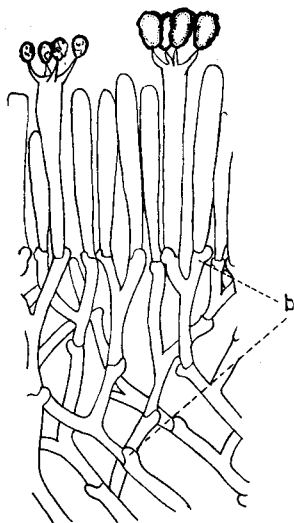


FIG. 8. — *Basidiomycètes*. *Thelephora terrestris* : basides et trame ; noter les boucles de cette dernière (b) (d'après VON ARX, 1967).

e) A côté de ces quatre divisions, il faut faire une place spéciale aux *Deutéromycètes* ou Champignons Imparfaites ; ils comprennent les innombrables formes dont le mode de reproduction sexuée est inconnu et qui représentent la majeure partie des espèces du sol. Certains sont stériles (*Mycelia sterilia*) et sont des formes végétatives d'Ascomycètes ou de Basidiomycètes. Les autres produisent des « conidies » sur leur mycélium ou sur des filaments différenciés en conidiophores, solitaires ou réunis en coussinets ou en colonnettes ; ce sont alors des MONILIALES, *Mucédinées* si leurs colonies sont de teinte pâle ou vive, *Dématinées* lorsqu'elles sont fuligineuses. Cette dernière distinction, rejetée par les systématiciens actuels, a cependant une valeur réelle, au moins sur le plan de l'écologie et c'est la raison qui nous amène à la maintenir ici. D'autres encore produisent leurs conidies sur des fructifications en lame ou en dôme (MÉLANCONIALES) ou en bouteille (SPHÉROPSIDALES). Ces formes fertiles se rattachent sans doute en majorité aux Ascomycètes. La systématique des Deutéromycètes est difficile et exige une étude attentive des appareils propagateurs et du mode de formation des conidies (fig. 9).

Nous avons envisagé jusqu'à présent les seuls Champignons filamenteux. Les formes unicellulaires ou, tout au moins, bourgeonnantes, c'est-à-dire les Levures, se relient tantôt aux Ascomycètes, tantôt aux Basidiomycètes, tandis que d'autres sont « asporées » en ce sens que nous ignorons leur mode de reproduction sexuée. VON ARX propose de les réunir toutes dans la classe des Endomycètes ; elles constituent en tout cas, pour nous, un groupe bien spécial que nous étudierons d'abord, avant d'en revenir aux Champignons filamenteux.

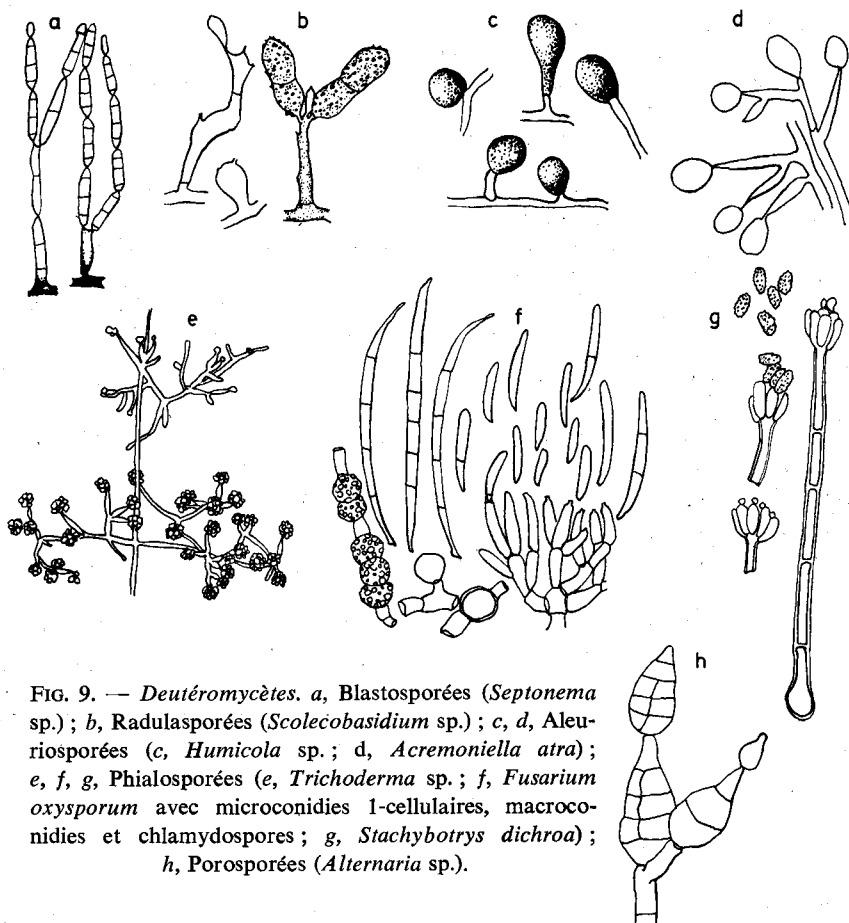


FIG. 9. — Deutéromycètes. a, Blastosporées (*Septonema* sp.); b, Radulasporées (*Scolecobasidium* sp.); c, d, Aleuriosporées (c, *Humicola* sp.; d, *Acremoniella atra*); e, f, g, Phialosporées (e, *Trichoderma* sp.; f, *Fusarium oxysporum* avec microconidies 1-cellulaires, macroconidies et chlamydospores; g, *Stachybotrys dichroa*); h, Porosporées (*Alternaria* sp.).

II. — LES LEVURES DU SOL

Les Levures sont les Champignons dont le thalle est unicellulaire et bourgeonnant ; cependant il peut arriver, dans certains genres, que se développe un pseudomycélium ou même un mycélium vrai.

Chez un premier groupe de Levures, la reproduction sexuée conduit, comme chez les Ascomycètes, à la formation de spores endogènes : ce sont les Levures ascosporées. Bien souvent c'est la cellule elle-même qui, après fécondation, se transforme en un asque contenant quatre ou huit ascospores de formes variables. C'est le cas des *Saccharomyces*, *Hansenula*, *Pichia*, *Lipomyces*. Ce premier groupe est, en général, mal représenté dans le sol, à l'exception des *Lipomyces* qui semblent exclusivement telluriques et se distinguent par leur caractère oligonitrophile.

D'autres Levures, rarement signalées dans le sol mais très abondantes dans la phyllosphère, émettent des spores externes, caduques par un mouvement de bascule analogue à celui qui libère les basidiospores de leur stérigmate ; qualifiées de basidiosporées, elles comprennent les *Sporobolomyces* roses et les *Bullera* incolores.

Enfin la majorité des Levures du sol se multiplient seulement par bourgeonnement et sont dites asporées : *Candida*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Torulopsis*, *Trichosporon*.

Les Levures sont relativement peu nombreuses dans les sols et l'on doit recourir, pour les mettre en évidence, à des méthodes d'enrichissement ou, au moins, à l'emploi de milieux électifs. On a pu ainsi s'assurer que les sols cultivés aussi bien que les sols forestiers en contenaient de quelques dizaines de mille à plusieurs centaines de mille par gramme de terre (V. JENSEN, 1963b-1964).

L'existence d'une zymoflore tellurique a été longtemps mise en doute. En effet, les Levures sont fort abondantes dans les vergers et les vignobles et il s'agit alors, en partie du moins, d'espèces fermentant les sucres et qui sont certainement entraînées depuis la surface des fruits jusque dans le sol. Mais DI MENNA (1960) a démontré que, beaucoup plus souvent, les espèces isolées du sol étaient différentes de celles qui peuplent la surface des organes aériens des végétaux supérieurs. Les espèces épiphytes, lorsqu'elles sont délavées par la pluie, semblent incapables de se conserver dans le sol ; d'ailleurs, dès 1890, HANSEN avait remarqué que les Levures cultivées, telles les *Saccharomyces*, disparaissaient peu de temps après leur introduction dans la terre et que, seules, leurs ascospores pouvaient subsister plus longtemps.

Il faut donc admettre que le sol renferme une population propre composée de Levures variables suivant son type et ses caractéristiques, variables aussi suivant la végétation qu'il porte. Cependant les lois de leur répartition ou de leurs éventuelles fluctuations saisonnières sont encore imparfaitement connues.

Dans l'ensemble, les Levures sont nombreuses dans les sols riches en matière organique fraîche ou peu décomposée et peut-être plus encore dans les litières forestières. Dans les sols bruns au Danemark, elles sont plus abondantes sur mor que sur mull et cette différence ne peut être attribuée au pH qui a peu d'influence sur leur répartition. Elles semblent encore nombreuses dans certaines tourbières : ainsi dans une tourbière basse de la région de Minsk, elles constituaient entre 20 et 50 cm de profondeur quelque 50 % de la microflore totale ; on a tenté d'expliquer ce fait par l'aptitude des formes fermentant les sucres à se développer en anaérobiose.

Cependant, la plupart des rapports indiquent qu'elles sont encore plus fréquentes dans les sols cultivés et sous prairie.

Le cas des *Lipomyces* mérite une mention spéciale en raison de leur répartition quasi générale : on les a trouvées dans presque tous les sols où on les a recherchées : aux Etats-Unis, en URSS depuis la zone des sols derno-podzoliques jusqu'à celle des chernozems, en Bulgarie, sur le pourtour du Pacifique. Elles ne semblent rares que dans des conditions climatiques extrêmes : grand Nord, haute montagne, zones arides d'Egypte. Comme les autres Levures, elles sont peu affectées par le pH (4,0-4,1 à 7,6-8,2). Leur nombre varie avec l'humidité au cours de la saison (DI MENNA, 1966b). Mais DI MENNA n'a noté leur dominance que dans un très petit nombre de sols d'où les

TABLEAU V. — RÉPARTITION DES LEVURES DANS LES SOLS FORESTIERS ET LES PÂTURAGES (selon DI MENNA, 1960 et V. JENSEN, 1964)

	Hêtre mull	Hêtre mor (JENSEN)	Chêne mull	Epicéa mor	FORÊTS		PÂTURES		
					1.	2.	1.	2. (a)	3. (a)
Nombre de colonies × 1 000	27,7	130,6	49,3	68,9	2,2	15,4	9,6	6,4	7,4
<i>Candida</i> spp.	64	78	47	48	73	50	6	70	66
<i>Torulopsis</i> spp.	30	21	48	49	—	—	2	—	2
<i>Cryptococcus</i> spp.	0	0	1	0	8	6	80	15	20

(a) Défriches récentes.

autres Levures sont presque absentes et dont le climat est très contrasté, humide en hiver, chaud et sec en été. Ceci, joint au fait que l'apport de sources d'azote les défavorise et que leur isolement doit se faire sur milieu sans N, permet de croire à l'existence de phénomènes de compétition auxquels elles seraient particulièrement sensibles.

L'influence de la végétation s'exprime à la fois sur les plans qualitatif et quantitatif : dans leur ensemble, les Levures sont plus nombreuses dans le mor sous le Hêtre que sous l'Epicéa. Les *Cryptococcus* sont plus fréquents dans les sols de prairie, les *Lipomyces* dans les terres arables, les *Torulopsis* et *Candida* en forêt, mais ces derniers pourraient subsister après défrichage si les conditions climatiques le permettent (DI MENNA, 1960) (tableau V).

L'influence de la végétation s'exprime encore au niveau de la rhizosphère : les Levures sont particulièrement variées et nombreuses dans celle de la plupart des plantes cultivées, sauf celle de l'Avoine qui paraît inhibitrice. Cette stimulation intervient au moment où la croissance de la plante est maximale ; cependant les *Lipomyces* se multiplient seulement quand la culture vieillissante fournit au sol des débris organiques (BAB'EVA et BELJANIN, 1966).

Le rôle des Levures dans le sol est mal connu : ce sont, pour la plupart, des formes utilisant les nitrates et les sucres simples ou les oligosaccharides mais inaptes à dégrader les glucides complexes sauf, exceptionnellement, la pectine. Aussi peut-on les considérer comme des organismes glucophiles inféodés à la végétation et à la présence de matières organiques peu transformées : par exemple, elles sont absentes des sols nus dans les régions antarctiques (DI MENNA, 1966a).

Les *Lipomyces* semblent faire exception : ils ne demandent pour se développer que de très faibles doses d'azote grâce auxquelles ils sont capables de dégrader quelques centaines de fois plus de C organique ; en outre, ils semblent favorisés par la présence d'acides humiques (KONONENKO, 1959). Dans la nature, on les rencontre fréquemment associés aux Bactéries aérobies fixatrices d'N vis-à-vis desquelles ils exercent un effet stimulant (TRIBUNSKAJA, 1962 ; DOMMERGUES, 1966).

III. — LES CHAMPIGNONS FILAMENTEUX

1° Numérations, biomasse

Il est courant de procéder à la numération des Champignons lorsqu'on analyse la microflore d'un sol. On obtient ainsi des résultats bien différents suivant les caractéristiques de celui-ci, suivant l'altitude, le climat, le relief, les groupements végétaux. Les chiffres varient entre quelques milliers et quelques millions par gramme de terre et fournissent des indications intéressantes en ce sens que les mycoflores de sols semblables montrent, en général, les mêmes tendances quantitatives et, jusqu'à un certain point, qualitatives. Mais ces chiffres varient aussi, pour des sols comparables, suivant les techniques utilisées ; ainsi V. JENSEN (1963a) dénombre par gramme de terre 500 000 ou plus de 2 000 000 de Champignons dans un mor et 150 000 ou 700 000 dans un mull. Les différences restent nettes d'un sol à l'autre quelle que soit la méthode ; mais si l'on rapporte les résultats au poids de matière organique et non plus au poids de sol, les

TABLEAU VI. — QUANTITÉS DE MYCÉLIUM EN MÈTRES PAR MILLILITRE DE SOL,
(selon NICHOLAS et PARKINSON, 1967)
Cas d'un podzol

HORIZON	JUILLET	JANVIER
A ₀ H	42	54
A ₁	33	62
A ₂	30	64
B ₁	31	47
B ₂	2	
C	0,5	

TABLEAU VII. — CROISSANCE ET ABONDANCE DES MYCÉLIUMS DANS UN MULL CALCIQUE,
UN MULL ACIDE ET UN MOR, EN SURFACE DU SOL
(selon NAGEL DE BOOIS et coll., 1967)

	MULL Ca	MULL ACIDE	MOR
Croissance (= nombre de mailles colonisées %)	15,4	14	13,9
Longueur du mycélium en m/g de sol	178	258	924
Longueur du mycélium en m/g de matière organique	1 780	1 830	4 600

chiffres sont du même ordre de grandeur dans les deux humus où pourtant les activités fongiques semblent être fort différentes.

C'est que la numération des Champignons est généralement effectuée par la méthode des dilutions. Or celle-ci est justifiée dans le cas d'organismes unicellulaires comme les Bactéries et les Levures, mais non dans celui des Champignons filamenteux : ces derniers ne peuvent raisonnablement être évalués en nombre d'individus, mais seulement en biomasse. Or, à la mise en suspension du sol, les mycéliums sont dilacérés en fragments inégaux partiellement altérés et non viables.

D'ailleurs WARCUP (1955) a constaté que la très grande majorité (70 %) des colonies obtenues par ensemencement de plaques de gélose nutritive dérivait de spores alors que 4 % provenaient de fragments d'hyphes, les autres ayant une origine indéterminée. Les numérations révèlent surtout le nombre de spores dormantes ; elles reflètent une « combinaison de ce qui est, de ce qui était et de ce qui peut être » (CHESTERS, 1949) et leur signification écologique est obscure.

L'examen direct du sol permet de se faire une idée moins imprécise de la biomasse fongique, mais les résultats obtenus varient de 3 à 10 fois suivant les échantillons et les méthodes utilisées (NICHOLAS et PARKINSON, 1967) (tableau VI). Si l'on admet des chiffres compris entre 30 et plus de 60 m de mycélium par gramme de terre, si l'on tient compte du diamètre des hyphes et de leur densité, on aboutit à des biomasses d'au moins une tonne à l'hectare pour des horizons organiques de 15 cm d'épaisseur, par exemple dans le cas d'un podzol à humus brut bien développé.

Mais à vrai dire de telles évaluations sont illusoire et ne représentent pas la biomasse réelle. En effet une partie plus ou moins considérable des mycéliums observés est incapable de germer ; ainsi le mor renferme une grande quantité d'hyphes fragmentées et brunes, mais non viables et qui sont probablement les vestiges de Champignons qui se sont développés dans la couche de fermentation F_1 puis ont été dissociés en partie par la faune (KENDRICK et BURGESS, 1962).

L'examen direct montre encore que la masse fongique est très variable suivant les sols mais ceci ne reflète pas nécessairement l'intensité des actions exercées par la mycoflore, actions qui sont plutôt en relation avec sa croissance effective. NAGEL DE BOOIS et JANSEN (1967) ont pu, grâce à une méthode ingénieuse, évaluer cette dernière et la comparer aux résultats de mensurations plus classiques ; on obtient ainsi une image de l'activité des Champignons dans un sol à une saison donnée et aussi de la vitesse de leur destruction. On a ainsi une démonstration de faits déjà pressentis : les hyphes paraissent rares dans le mull où les Bactéries abondent alors qu'elles sont assez nombreuses dans le mor et pourtant la croissance mycélienne est à peu près aussi active dans les deux milieux. C'est donc que dans le mull calcique, les Bactéries mycolytiques entraînent la destruction rapide des mycéliums alors que, dans le mor, les Champignons sont consommés dans les horizons superficiels par la mésofaune de sorte que leurs débris se retrouvent dans les déjections animales. Au contraire, en profondeur, là où la faune ne pénètre pas, les hyphes subsistent en quelque sorte fossilisées (tableau VII).

En résumé, la numération des Champignons est un test conventionnel, utile pour la caractérisation des sols mais dont on ne peut tirer d'indication directe concernant le

rôle de ces organismes dans leur milieu naturel. Des chiffres élevés indiquent la présence de spores nombreuses mais qui peuvent résulter d'une activité antérieure transitoire (cf. *infra*). Par contre la présence d'un mycélium travaillant effectivement dans le sol passe inaperçue s'il ne donne pas naissance à des spores. On comprend que les analyses habituelles mettent surtout en évidence les espèces les plus fécondes : *Mucorales*, *Penicillium*, *Aspergillus*, etc. et ne révèlent pas celles dont la croissance est lente (nombreuses *Dématiées*) ou qui sont dépourvues d'appareil conidien (*Basidiomycètes*). Pour arriver à les découvrir, il faut avoir recours à d'autres méthodes beaucoup plus compliquées et dont aucune n'est irréprochable.

2° Etat des Champignons dans le sol

L'étude microscopique du sol intact, de ses suspensions aqueuses ou encore de coupes minces ou de sections polies permet de constater que les Champignons s'y rencontrent à l'état de mycélium et d'organes de propagation ou de conservation que l'on peut désigner sous le nom de « spores », en donnant à ce terme son sens le plus large.

a) *Les mycéliums* du sol sont tantôt hyalins, continus (*Zygomycètes* ou *Oomycètes*) ou septés (*Ascomycètes*, *Basidiomycètes*, *Deutéromycètes*), tantôt fuligineux : il peut s'agir alors, soit de *Deutéromycètes* dématiés ou d'*Ascomycètes*, soit d'hyphes fossilisées. Il semble que le dépôt de pigments sombres sur les parois favorise la résistance du Champignon à certains facteurs adverses tels que les radiations calorifiques ou lumineuses. Les hyphes peuvent être solitaires ou diversement groupées ; ce sont alors ou bien des cordonnets (= synnémas) de teinte pâle ou vive formés simplement de filaments agrégés mais non différenciés ou bien des rhizomorphes dans lesquels les hyphes périphériques sont incrustées de pigments sombres et mortes, jouant un rôle protecteur, celles du centre restant hyalines, vivantes.

Du point de vue de leur mode de colonisation du sol, HEPPLÉ et BURGESS (1956) classent les comportements des mycéliums en plusieurs catégories. Nous en retiendrons trois : dans le type *Penicillium*, les particules organiques sont envahies par des hyphes densément enchevêtrées produisant une multitude de conidies mais ne s'étendant guère au sol voisin. Dans le type *Mortierella ramanniana*, le mycélium reste encore localisé au voisinage du fragment nourricier ; il peut cependant s'étendre à une certaine distance de celui-ci, puis il disparaît après avoir produit un grand nombre de chlamydospores qui demeureront les seuls vestiges de son intervention passagère. Dans le type « *Basidiomycète* », qui n'est d'ailleurs pas limité à ces Champignons, le mycélium rayonne à partir du fragment colonisé en formant des cordonnets d'hyphes agrégées ou des rhizomorphes qui peuvent s'étendre jusqu'à des distances considérables. On peut en rapprocher le type « rond de sorcière » dans lequel les mycéliums de certains *Basidiomycètes* (*Marasmius oreades*, *Psalliota arvensis*, etc.) s'étendent régulièrement en un cercle qui s'agrandit d'année en année : WARCUP (1951) a vu leur mycélium passer de racine en racine tout en gagnant en profondeur et a constaté comment, dans cette région, les autres micro-organismes sont rares, à l'exception des *Ascomycètes*.

Le point remarquable est que ces aspects morphologiques sont liés à des aptitudes physiologiques très différentes : dans les deux premiers cas, il s'agit d'espèces glucophiles dont la croissance rapide leur donne une aptitude élevée à coloniser en premier les matières organiques fraîches ; mais ils sont de mauvais compétiteurs dans les milieux pauvres et n'ont aucune aptitude à la translocation des aliments. Les Basidiomycètes ont un comportement inverse : ils sont sensibles aux antagonismes dans les milieux riches en aliments de choix alors que les substances nutritives peuvent cheminer au long de leurs rhizomorphes jusqu'à des distances considérables. Les premiers survivent à l'état de spores ; les seconds sous forme de mycélium actif ou dormant.

b) **Les fructifications** : on les observe rarement dans le sol où elles sont probablement localisées à des interstices de dimensions assez vastes pour permettre leur développement : au moins 200 μ de diamètre dans le cas des sporanges de Mucorales ou des appareils conidiens (WARCUP, 1965). Il est possible aussi que ces derniers se développent sous une forme rudimentaire pendant la phase de croissance active des mycéliums puis qu'ils soient lysés en même temps que ceux-ci. Des structures de ce type se forment, en tout cas, *in vitro*, dans des conditions de mycostase partielle : par exemple, si l'on dépose sur une plaque de gélose aux humates un fragment de feuille pourrissante on voit proliférer Bactéries, Amibes et Nématodes ; en même temps apparaissent des filaments mycéliens qui atteignent quelques millimètres de long puis produisent, dans le cas des *Fusarium*, une ou quelques macroconidies terminales.

Finalement les conidies libérées par la destruction du thalle sont dispersées par les mouvements de la mésofaune, par l'infiltration des eaux de pluie, de sorte que leur nombre varie d'un point à l'autre sans accumulation locale et que les différentes espèces sont mêlées (DOBBS et HINSON, 1960).

Les fructifications plus volumineuses sont parfois souterraines (Endogonacées, Champignons endogés : Tubérales, Gastéromycètes) ; plus souvent elles sont superficielles : Pezizes et autres grands Ascomycètes, Agaricales. Cependant les carpophores en croûte des Basidiomycètes Aphyllophorés ont été signalés dans les galeries et tunnels creusés par la faune ou sous les mottes de terre dans les labours. Souvent les fructifications sont en relation avec des débris organiques, mais ce n'est pas une règle et les « croûtes » de certains Aphyllophorés (*Thanatephorus*, *Sistotrema*, *Peniophora*) se rencontrent principalement sur sol nu (WARCUP, *loc. cit.*).

c) **Les spores** du sol appartiennent à des types divers dans leur origine et dans leur signification biologique. Certaines sont des organes de propagation dont la vitalité est brève : quelques dizaines de minutes chez les zoospores des Oomycètes, quelques jours chez les sporangiospores des Mucorales ou les conidies de certains Champignons imparfaits.

Mais il n'y a pas là une règle absolue : les zoosporanges de *Pythium mamillatum* ont le caractère d'organes de conservation, les conidies de certaines espèces restent vivantes plusieurs années (jusque plus de 10 ans parfois) et celles des Dématiées semblent, comme les mycéliums fuligineux, résistantes à l'insolation et à la chaleur (NICOT, 1955).

Les chlamydospores sont des organes de conservation, très répandus, résultant de l'accumulation de réserves dans une région (article du mycélium ou d'une conidie, sporanges des Oomycètes) qui se dilate quelque peu et s'entoure finalement d'une membrane épaisse et de teinte généralement foncée. Les bulbilles sont de petits massifs noirs, de forme variable, composés de « cellules » à parois épaissies et sombres. Les sclérotés sont des organes plus volumineux et complexes, comprenant une médulle centrale, pâle et riche en réserves, entourée d'un cortex noir et résistant. Certains Champignons (par exemple les Sclerotiniacées parmi les Ascomycètes, divers Aphyllophorés auxquels correspondent des formes imparfaites Rhizoctone) sont caractérisés par la production de sclérotés et en tirent une aptitude remarquable à survivre dans les sols normaux. Les conidies de *Verticillium albo-atrum* meurent en moins de trois jours ; ses microsclérotés se conservent plus de six mois. Enfin les zygotes des Oomycètes et des Phycomycètes sont souvent des organes de conservation essentiels à tel point, par exemple, que dans les sols défavorables à leur formation, *Pythium mamillatum* ne puisse survivre. Quant aux ascospores, leur vitalité est sans doute variable, mais elles paraissent plus résistantes aux conditions adverses que les conidies : ainsi un traitement du sol par chauffage modéré favorise l'isolement des Ascomycètes.

Il semble que la formation de ces divers types d'organes de résistance soit déclenchée ou au moins favorisée par les conditions de vie régnant dans le sol ; bien des espèces, qui n'en produisent pas ou bien en donnent très peu en culture pure, en forment de grandes quantités dans la nature. Ceci peut être la conséquence d'un certain épuisement du milieu ou d'interactions antagonistes entravant la croissance végétative et incitant le Champignon à entrer dans une phase de conservation. En tout cas un phénomène semblable se retrouve, *in vitro*, au niveau d'ensemencements massifs où prolifèrent Bactéries, Champignons et Protozoaires.

Après leur formation, ces organes restent plus ou moins longtemps dormants, peut-être sous l'influence de la fongistase. Si des conditions favorables surviennent, ils germent, l'organisme passe à l'état de vie active et doit alors trouver un habitat convenable, sinon il succombe par suite de la fongitoxicité des sols (lyse de germination). Mais il semble que, bien souvent, dans la nature, ce soit l'apport de cet habitat satisfaisant qui lève la dormance, de sorte que le Champignon peut se développer et reconstituer ses réservoirs sous forme de nouveaux organes de conservation.

Ceci est essentiel, car la vitalité de ceux-ci étant toujours limitée dans le temps, leur nombre irait peu à peu diminuant jusqu'à élimination complète.

Les spores, dans le sol, sont parfois bien reconnaissables, mais beaucoup d'entre elles, et ceci vaut surtout pour les conidies et les sporangiospores, sont tellement déformées, anguleuses, mal colorables, qu'il est difficile ou impossible de les distinguer des particules minérales même par examen en fluorescence. De plus leurs caractéristiques sont parfois très différentes de celles qu'elles montrent hors du sol ; ainsi les spores des *Penicillium* ne sont généralement pas mouillables, qu'elles soient formées en culture pure ou sur des matières en décomposition ; mais dans le sol, elles sont facilement mouillées.

3° Signification écologique de la mycoflore du sol

Nous nous contenterons de brèves indications concernant les activités des Champignons du sol puisque celles-ci seront envisagées tout au long de cet ouvrage. Leur rôle dans le cycle de l'azote est peu spectaculaire : certaines espèces sont douées d'une faible activité fixatrice, leur pouvoir ammonifiant paraît inférieur à celui des Bactéries dans les conditions naturelles où les Champignons semblent plutôt participer à l'organisation de l'azote qu'à sa minéralisation. Ceci correspond à leurs activités synthétiques plus élevées que celles des Bactéries et à leur répartition particulière. En effet, leur rôle essentiel se trouve probablement dans la minéralisation du carbone organique, en particulier des sources les plus complexes ; ils possèdent, parfois à un degré extraordinaire — cas des agents de pourriture des bois — l'aptitude à dégrader de grandes quantités de matière organique en se contentant de faibles quantités d'azote, peut-être par suite du recyclage accéléré de leurs réserves, peut-être parce qu'ils savent mobiliser des sources d'azote médiocres ou résistantes. Ceci explique leur prépondérance dans les sols pauvres, dans les débris végétaux frais, surtout de plantes âgées où le rapport C/N peut atteindre des valeurs considérables.

4° Groupes écologiques

De toute évidence, les spores dormantes ont, pour l'écologie dynamique, une signification différente de celle que revêtent les mycéliums actifs : pour reprendre l'expression de CHESTERS, les mycéliums correspondent à ce qui est, les spores sont le vestige d'un passé et l'espoir de ce qui peut être. Aussi a-t-on cherché à mettre au point des techniques permettant de distinguer l'un de l'autre ces aspects, en apparence opposés, de la mycoflore. Il faut bien avouer que, jusqu'ici, il n'existe aucune méthode vraiment satisfaisante : la seule irréprochable, par repiquage des hyphes du sol (WARCUP) est d'emploi mal commode et souvent décevante et les techniques de lavage ne donnent aucune garantie quant à l'origine des mycéliums obtenus. Mais ces techniques sont intéressantes parce qu'elles permettent de découvrir les formes peu fertiles ou à croissance lente qui, autrement, passent inaperçues. Or, ce qui importe, c'est peut-être moins de connaître les espèces actives au moment d'une analyse, que de recenser, autant que faire se peut, toutes les formes susceptibles de participer, dans des conditions données, à l'activité biologique du sol et de déterminer leurs niches écologiques.

Pour GARRETT (1956), les substrats des Champignons du sol sont « les tissus végétaux ou animaux, vivants ou morts, frais ou partiellement décomposés, placés dans le sol ou à la surface de celui-ci, ou encore les produits solubles qu'ils laissent diffuser ». On peut ainsi y reconnaître deux groupes majeurs : les Champignons du sol (*soil inhabiting fungi*) et les Champignons des racines (*root inhabiting fungi*).

Les premiers seraient définis par leur aptitude à vivre dans le sol et à attaquer les débris organiques sans être obligés de passer par une phase symbiotique ou parasite. Cette dernière est au contraire indispensable aux seconds dont l'aptitude compétitive

est réduite et leur permet seulement d'attaquer des hôtes vivants ou peut-être moribonds où ils sont à l'abri de la concurrence vitale ; ils pourraient ensuite éventuellement se maintenir pendant des années dans les débris de leur hôte. Au premier type appartiennent des saprophytes obligatoires et des parasites facultatifs polyphages ; au second, des parasites spécialisés et les Champignons des mycorrhizes. Ces indications sont résumées dans le tableau suivant (GARRETT) :

I. <i>Saprophytes obligatoires</i> (se nourrissant de cadavres animaux ou végétaux, ou de l'humus)	{ Parasites facultatifs polyphages (sur débris et éventuellement racines vivantes) Parasites spécifiques (sur racines vivantes et leurs cadavres) Symbiotes mycorrhiziens	Champignons du sol
II. <i>Champignons</i> susceptibles de s'associer aux racines		Champignons des racines

A leur tour, les Champignons du sol pourraient se répartir en catégories définies par les substrats qu'ils utilisent et aussi par leur mode de croissance.

Les Champignons glucophiles (= *sugar-fungi* de GARRETT) se rencontreraient principalement à l'état de spores douées d'un pouvoir germinatif élevé qui, joint à leur croissance rapide, les rendrait aptes à envahir, les premiers, les substrats frais riches en aliments de choix. Puis dès que les fractions facilement assimilables s'épuisent, le Champignon fructifie et passe à l'état latent. Ceci correspond aux types de croissance des Mucorales et des *Penicillium*, par exemple. A l'opposé, GARRETT qualifie de « Champignons dégradant la lignine » des formes apparaissant tardivement sur des débris déjà très décomposés où subsistent seulement les fractions les plus résistantes ; pour satisfaire les exigences alimentaires indispensables à leur établissement sur ces débris, comme à la production des enzymes nécessaires à la dégradation de ceux-ci, ils devraient pouvoir se nourrir d'un substrat déjà colonisé à partir duquel ils assureraient la translocation des réserves jusqu'au front d'attaque grâce à des structures telles que synnémas ou rhizomorphes. C'est le type Basidiomycète. Telles sont, présentées schématiquement, les conceptions classiques ; nous y reviendrons plus loin et plus en détail pour montrer combien la réalité est plus complexe et plus variée. Retenons simplement ici que les débris végétaux sont initialement des substrats hautement spécifiques et donc électifs gouvernant la composition des premiers stades sériels. Par la suite, cette spécificité s'atténue et l'on conçoit sans peine que peu à peu la mycoflore soit de plus en plus sous la dépendance des caractères du sol.

5° Répartition des Champignons dans les sols

L'analyse d'une association phanérogamique est relativement simple car ses différents constituants sont visibles au moins pendant une partie de l'année. L'analyse du peuplement microbien d'un sol reste toujours incomplète du fait de l'insuffisance de

nos techniques ; de plus, l'identification des espèces est longue et délicate, de sorte qu'il est impossible, pour le moment, de définir des groupements fongiques en relation avec les conditions écologiques du milieu. Des tentatives ont été faites en ce sens (cf. les représentations graphiques de PEYRONEL) mais elles reposent sur la répartition de quelques genres ou même de taxons encore plus vastes, certainement hétérogènes dans leurs exigences et donc dans leur signification écologique.

Pour le moment, nous disposons donc seulement de nombreuses et longues listes d'espèces grâce auxquelles on peut entrevoir certaines règles de répartition écologique et géographique (MISHUSTIN et coll., 1961).

Les Oomycètes forment un groupe trop peu étudié parce qu'il échappe aux techniques classiques : il faut avoir recours à des méthodes de piégeage ou à l'emploi de milieux électifs spéciaux. Ce sont surtout des formes hygrophiles, offrant tous les intermédiaires entre le parasitisme et le saprophytisme. Elles sont surtout fréquentes dans les sols lourds, mais aussi, semble-t-il, dans les terres cultivées et exigent souvent des pH élevés. Les *Pythium* sont abondants sous gazon et cultures maraîchères et *P. intermedium* serait un des principaux habitants du sol (CHESTERS, 1949).

Les Zygomycètes sont essentiellement des formes saprophytes, adaptées à l'habitat terrestre mais préférant cependant les milieux riches en eau, cette dernière jouant un rôle essentiel dans la dissémination de leurs spores. Ils ne semblent pas produire d'antibiotiques et leur équipement enzymatique réduit exige qu'ils disposent pour se développer d'azote organique facilement assimilable et de glucides simples, bien que certaines espèces attaquent l'amidon et certaines hémicelluloses.

On les rencontre donc en nombre plus élevé sur les déjections de certains animaux (Rongeurs, Cervidés, Equidés) et surtout dans les sols recevant des matières organiques fraîches : dans les horizons superficiels des forêts, des prairies, des steppes, dans les tourbières et même les marécages au cours des périodes de sécheresse estivale. Mais on en rencontre jusque dans les sables du Sahara (NICOT, 1955) où ils accompliraient leur cycle de développement, à la manière des thérophytes, au cours des brèves périodes d'humidité. Ils sont relativement moins nombreux dans les sols cultivés où les matières organiques sont moins abondantes et se dégradent plus rapidement par suite des travaux mécaniques répétés. Mais dans ces sols, malgré leur nombre réduit, les Zygomycètes montrent une diversité accrue. Aussi bien les a-t-on signalés dans la rhizosphère de plantes herbacées, en particulier des Céréales. Enfin certains d'entre eux sont capables de croître en anaérobiose en fermentant les sucres.

Ils sont surtout représentés, dans les régions tempérées, par les genres *Mucor*, *Mortierella* et *Zygorhynchus*. Certaines espèces demandent des pH relativement élevés (*Mo. alpina*) alors que *Mo. ramanniana* est répandue dans les sols forestiers un peu acides, sous résineux surtout mais aussi sous feuillus. Les *Mortierella* sont parfois très nombreux dans les couches profondes du sol où ils constituent plus de 80 % des propagules fongiques ; ceci pourrait résulter de l'entraînement en profondeur de leurs spores par les eaux d'infiltration ou bien de l'effet stimulant exercé par la richesse en bases des horizons inférieurs dans les sols lessivés.

Les *Rhizopus* sont répandus dans les régions tempérées où ils s'accommodent mieux des sols cultivés ; mais surtout ils présentent des exigences thermiques plus élevées et sont fréquents sous les tropiques (MEYER, 1963).

Les *Cunninghamella* et les *Choanephora* ont un caractère thermophile et sont surtout signalés dans les sols des régions tropicales et subtropicales.

Le sol contient les mycéliums et les rhizomorphes de grands *Ascomycètes* que l'on voit de temps à autre fructifier à sa surface ou en profondeur : *Pyronema* des sols brûlés ou stérilisés par la chaleur, autres *Pezizes*, *Helvelles*, *Morilles*, *Truffes*. Ces dernières comprennent surtout des *Champignons mycorrhiziens*, mais, dans l'ensemble, ces grandes formes, dépourvues d'appareil conidien échappent au microbiologiste du sol. Il en va de même de certaines *Sphérialées* (*Sordaria*, *Coniochaeta*, *Xylaria*). Il est cependant possible de mettre à profit l'effet stimulant exercé par le chauffage sur la germination des ascospores pour les mettre en évidence et WARCUP et BAKER (1963) en ont trouvé dans la moitié des sols étudiés.

Parmi les *Sphérialées* encore, les *Mélanosporacées* se révèlent plus souvent. C'est le cas notamment des *Chaetomium* qui sont des cellulolytiques actifs, facilement isolables sur milieu au papier. Ils sont répandus dans certains sols riches en sources d'azote facilement assimilable, organique ou minéral, et en cellulose. Ils semblent être parmi les premiers colonisateurs des débris de Graminées et on les rencontre surtout sous végétation herbacée (steppes), sous jachère et dans les sols cultivés, dans les régions tempérées comme sous les tropiques.

Enfin parmi les nombreuses formes imparfaites des sols il en est qui se rattachent à des *Ascomycètes* : *Fusarium* et *Trichoderma* aux *Hypocréacées*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Paecilomyces* aux *Eurotiacées*.

Nous envisagerons ces formes conidiennes avec les *Champignons imparfaits* ; ensemble, ils constituent le groupe le plus vaste et le plus divers de la mycoflore. Le manuel de GILMAN en décrit près de 400 espèces et il y en a certainement beaucoup plus ; aussi devons-nous nous limiter aux genres les plus communs et dont, par conséquent, la signification écologique est la moins mal connue.

Les *Penicillium* sont les *Champignons* les plus fréquemment signalés dans tous les sols. Ceci résulte en partie de leur grande fécondité jointe à l'imperfection de nos méthodes ; mais il ne faut pas, pour autant, minimiser leur importance écologique. Certains sont des producteurs d'antibiotiques célèbres tandis que d'autres paraissent élaborer des substances toxiques pour les végétaux supérieurs. Enfin leurs activités humificatrices et minéralisatrices doivent être notées : ils sont capables d'utiliser, outre les monosaccharides et disaccharides, l'amidon et, pour certaines espèces, la cellulose. Quant à l'azote, ils peuvent l'emprunter aux sels minéraux et même à certaines formes complexes, telles que les acides humiques. Les *Penicillium* apparaissent, en majorité, comme des hygrophytes ou, plus souvent, des mésophytes que l'on rencontre dans les sols les plus divers, mais surtout dans les sols vierges. Cependant leur importance diminue des zones tempérées vers les régions subtropicales et tropicales sèches. MISHUSTIN et coll. (*loc. cit.*) ont tenté d'analyser la répartition géographique des différentes sections de ce genre (tableau VIII). Les *Asymmetrica* présentant des exigences thermiques larges

TABLEAU VIII. — RÉPARTITION DES DIFFÉRENTES SECTIONS DU GENRE « *PENICILLIUM* »
DANS LES SOLS ZONAUX
(d'après MISHUSTIN et coll., 1961)

ZONE	TYPE DE SOL	MONOVERTI- CILLATA	BIVERTI- CILLATA	ASYM- METRICA
Toundra	Gleyifiés-podzoliques	8	1	91
Taïga	Podzols	41	0,5	58,5
Forêt-Prairie	Podzols	35	24	41
Forêt-Steppe	Gris forestier	22	52	26
Steppe	Chernozem	14	13	73
Steppe sèche	Châtains	11	2	87
Steppe désertique	Sierozem	25	2	73
Subtropicale	Sols jaunes	12	7	81
	Solontchak	87	4	9
	Tourbière basse	93	1,7	5
Zone des podzols	Tourbière haute	59	35	6

sont les plus répandus dans la grande majorité des sols des différentes zones climatiques. Ils sont accompagnés principalement par les *Biverticillata* dans les sols forestiers, surtout dans les sols gris, au sud du 50° parallèle ; les *Monoverticillata* ont un certain caractère xérothermique leur permettant de proliférer sous les climats chauds (Afrique du Sud) et de devenir prépondérants dans les sols salés infertiles (solonetz, solontchaks, takyrs), mais ils ne sont pas moins dominants dans certaines tourbières nordiques, peut-être en raison de leurs exigences alimentaires étroites, proches de celles des Zygomycètes. Les études de cet ordre sont du plus haut intérêt bien que, trop souvent, les données sur lesquelles elles reposent soient en nombre insuffisant pour que leur signification dépasse celle d'hypothèses vraisemblables. De plus, comme nous l'avons déjà dit, il est impossible d'envisager utilement les problèmes de répartition au niveau de l'ordre, de la famille, voire même du genre : les espèces qui les constituent peuvent avoir des exigences et donc des significations différentes.

S'il est pourtant un point universellement admis, c'est le caractère xérothermophile d'un certain nombre d'*Aspergillus*, de sorte que la dominance relative de ce genre dans une population est un indice d'un climat ou d'un microclimat sec. En conséquence, diverses espèces parmi les plus communes se rencontrent davantage dans les sols cultivés : *A. fumigatus*, *A. terreus*, *A. flavus*, *A. niger*. Dans la cuvette congolaise, leur présence correspond à la disparition de l'ombrage forestier (MEYER, *loc. cit.*). Enfin quelques *Aspergillus* possèdent des équipements enzymatiques spécialisés leur permettant d'attaquer certaines substances complexes comme les tannins.

Les *Fusarium* comprennent un ensemble très divers de formes plus ou moins spécialisées se rattachant à quelques grandes espèces et capables, suivant les races, de se comporter en parasites ou en épiphytes des racines des végétaux supérieurs et, en tout cas, en saprophytes sur les matières organiques incomplètement humifiées. Bon nombre d'entre eux sont doués d'une grande activité cellulolytique et *F. culmorum* serait le

premier colonisateur des pailles de blé, mais on en rencontre aussi dans les matériaux lignifiés (brindilles et branchettes). On les trouve parfois en abondance dans la rhizosphère de nombreuses plantes cultivées et dans les organes herbacés en décomposition. Aussi sont-ils plus fréquents sous prairie et dans les sols cultivés que dans les forêts.

Les *Trichoderma* sont des formes à croissance rapide, très fécondes et dont la distinction est si délicate qu'on les identifie généralement toutes à *T. viride*. Aussi est-il difficile de reconnaître leur signification : on les rencontre dans les sols riches en matière organique relativement décomposée et résistante et ils sont capables de vivre en association avec les Basidiomycètes lignivores. Par contre, la salinité des sols entraîne leur disparition.

Les Dématiées forment un groupe tellement vaste et hétérogène qu'il est difficile de lui accorder une signification globale. Ainsi les *Cladosporium* paraissent bien être des parasites de faiblesse ou des saprophytes apportés au sol par les débris végétaux en décomposition et s'y maintenant pendant des périodes plus ou moins brèves. Les *Stemphylium* qui représentent plus de 60 % de la population superficielle des takyrs et que NICOT rencontre en abondance avec les *Curvularia*, *Sporidesmium*, etc. et des Sphéropsidales dans les sables secs de Beni-Abbès ont une tout autre importance : du fait de l'épaisseur des parois sporales et de leur pigmentation, elles caractérisent des populations xéro-thermophiles et photophiles spécialisées. Les *Alternaria* qui les accompagnent ont une répartition plus vaste et donc une signification plus obscure. D'ailleurs tous les sols contiennent des Dématiées : *Stachybotrys* neutrophile et cellulolytique, *Stysanus* zymogène et précoce, *Trichocladium*, *Humicola*, etc. et, ce qui est caractéristique, c'est moins leur présence que l'abondance relative de certaines d'entre elles.

L'étude des Basidiomycètes du sol se heurte à des difficultés techniques considérables : leurs exigences alimentaires souvent très spéciales, leur croissance parfois lente en font de mauvais compétiteurs sur les milieux de culture ordinaires. Quand on recourt à des méthodes spéciales comme le repiquage des hyphes du sol, on isole des mycéliums non identifiables à moins que l'on ne réussisse à provoquer leur fructification. Même dans ce cas, les espèces que l'on obtient ne sont pas celles dont les carpophores apparaissent sur le sol à certaines saisons (WARCUP, 1959 ; WARCUP et TALBOT, 1962). Les Basidiomycètes du sol sont donc surtout connus par leurs fructifications qui ont été maintes fois recensées en diverses régions et auxquelles on a même consacré des essais sociologiques ; mais ces travaux nous apprennent peu de choses sur leur mode de vie et leurs rôles. Ceux-ci ont été mis en évidence pour certains d'entre eux par d'autres méthodes.

Dans leur grande majorité, les Basidiomycètes du sol sont des Hyménomycètes : Agaricales (*Clitocybes*, *Tricholomes*, *Amanites*, *Coprins*, *Russules*, *Bolets*) et Aphyllophorales (*Sistotrema*, *Chanterelles*, *Clavaires*, *Hydnes*) et des Gastéromycètes (*Lycoperdons*, *Sclérodermes*) dont les significations sont très variables. Les uns sont des Champignons mycorrhiziens (*Amanites*, *Russules*, *Bolets*), d'autres sont des parasites des racines, capables de survivre plus ou moins longtemps à leur hôte en décomposant ses débris (*Armillaire*, *Rhizoctones*, *Ungulina annosa*) ; d'autres encore sont des saprophytes (*Marasmes*, *Mycènes*, *Collybies*, *Aphyllophorales*). Dans ce dernier groupe, il

en est qui vivent dans les litières, d'autres dans les bois pourrissants, les racines des arbres et des herbes.

Les renseignements dont nous disposons permettent de croire que des Basidiomycètes existent dans des sols nombreux et variés, sinon dans tous les sols : en forêt, dans les prairies et jusque dans les champs de Blé en Australie. Ils y vivraient dans des habitats électifs, à l'abri des compétiteurs trop puissants, mais ils pourraient s'en échapper grâce à leurs synnémas ou à leurs rhizomorphes et parcourir éventuellement dans le sol des distances considérables. Ainsi *Rhodopaxillus nudus* est limité aux litières en forêt et, dans les prairies, s'étend de racine en racine en cheminant près de la surface ou en profondeur suivant que le sol est acide ou neutre.

Selon les caractéristiques du sol et de la végétation, des espèces différentes se développent et remplissent des fonctions diverses : les unes sont des agents lignivores et cellulolytiques très actifs, d'autres dégradent seulement la cellulose tandis que les Champignons des mycorrhizes sont plus souvent caractérisés par leurs activités enzymatiques réduites.

On serait tenté de considérer les Basidiomycètes comme des zymogènes vivant en quelque sorte en marge des activités du sol, mais HURST et ses collaborateurs (1962) ont montré que certains d'entre eux joignent à leur pouvoir lignivore l'aptitude à dégrader les substances humiques. On pourrait alors aussi bien les classer parmi la microflore autochtone.

Conclusion. — Tous les sols contiennent une mycoflore abondante, composée principalement d'Eumycètes : il y a des Basidiomycètes même dans les dunes littorales (*Montagnites*) et les sables du Sahara. La biomasse fongique est sans doute très variable suivant les cas mais on peut l'évaluer entre 120 kg/ha et plus d'une tonne, dans les sols normaux.

Une large fraction de la mycoflore est formée de zymogènes subsistant à l'état de spores et entrant en activité sous l'influence d'un substrat stimulant. Leur nature dépend des caractéristiques du sol mais peut-être plus encore de sa végétation qui leur fournit des exsudats radicellaires ou foliaires, et surtout des débris frais. C'est cette première fraction de la mycoflore que recensent les analyses microbiologiques courantes ; elle comprend principalement des Champignons glucophiles dégradant les aliments simples ou labiles (sucres, hémicelluloses, pectines, protéines, phénols simples) mais aussi des espèces plus actives fragmentant certains polymères résistants : cellulose, lipides, tannins.

Une autre fraction dont l'étude est beaucoup plus difficile, comprend des mycéliums perennants, parcourant le sol en direction de certains substrats électifs représentés par les racines des végétaux supérieurs, vivantes ou mortes, les débris ligneux, les litières. En l'absence de ces aliments électifs, ils sont probablement très sensibles aux actions antagonistes de la microflore et revêtent parfois des formes dormantes et résistantes. En présence au contraire de substrats convenables, ils créent à leur voisinage une zone privilégiée d'où sont éliminés leurs antagonistes (par exemple, les « ronds de sorcières »). Leurs rôles sont très variés depuis la symbiose mycorrhizienne ou le parasitisme jusqu'à la dégradation des substances naturelles les plus résistantes : lignine et composés humiques.

CHAPITRE IV

LES ALGUES

Les Algues peuvent être définies comme les Thallophytes chlorophylliens de sorte qu'elles répondent à des types très divers, depuis des organismes unicellulaires de quelques μ de diamètre jusqu'à des formes massives de plusieurs dizaines de mètres de long.

Ce sont pour la plupart des organismes aquatiques et leurs grandes formes sont même exclusivement marines. Pourtant tous les sols ou presque renferment des Algues, unicellulaires ou filamenteuses et certaines d'entre elles semblent bien être exclusivement ou au moins principalement terrestres. De plus les analyses montrent que leur répartition est liée aux types de sol et de végétation de sorte que l'existence d'une phycoflore terrestre ne peut être mise en doute. C'est même dans les régions les plus désertiques qu'elles sont les plus visibles et que leur rôle est le plus frappant.

Les Algues du sol ont été moins étudiées que les autres fractions de la microflore et les principales publications les concernant ont été résumées par SHIELDS et DURRELL (1964) et CAMERON et BLANK (1966).

Les Algues, du fait de leur caractère phototrophe, possèdent pour la microbiologie du sol une signification très différente de celle des Bactéries ou des Champignons. Les autres micro-organismes sont pour la plupart des agents de minéralisation, des décomposeurs ; les Algues se rapprochent des végétaux supérieurs et réalisent, comme ceux-ci, des synthèses organiques, ce sont des producteurs. Aussi dans les terres fertiles, les Algues passent-elles trop souvent inaperçues : leur productivité est sans doute bien faible en comparaison de celle des Phanérogames. Au contraire, dans les milieux extrêmes, glacés ou torrides, où rien ne pousse, elles deviennent la seule végétation visible et nous connaissons donc surtout les formes qui colonisent les déserts. Cela ne signifie nullement que leur importance soit négligeable ailleurs, mais seulement que nous avons tendance à la négliger.

I. — APERÇU SYSTÉMATIQUE

La classification des Algues est compliquée et quelque peu variable suivant les auteurs et nous nous contenterons d'en indiquer les grandes lignes.

1. Il convient de mettre à part les **Cyanophytes** ou **Algues bleues** ⁽¹⁾ qui ne sont pas des Algues à proprement parler et qui se rattachent intimement aux Bactéries. Ce sont en effet des organismes unicellulaires ou pluricellulaires mais alors constitués d'éléments identiques entre eux et disposés en files linéaires ou trichomes et parfois accompagnés d'organes de multiplication ou de spores de résistance. Comme les Bactéries, ce sont des procaryotes dépourvus de noyaux définis et de plastes ; leurs pigments assimilateurs sont portés par des organites inframicroscopiques et consistent en chlorophylle *a* ; celle-ci est accompagnée de pigments, l'un bleu-vert (phycocyanine), l'autre rouge (phycoérythrine).

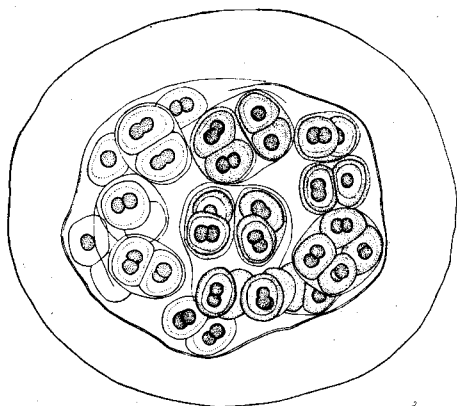


FIG. 10.

FIG. 10. — Cyanophycée : *Gloeocapsa alpina*.



FIG. 11.

FIG. 11. — Cyanophycée : *Anabaena scheremetievi*. Hy, hétérocyste.

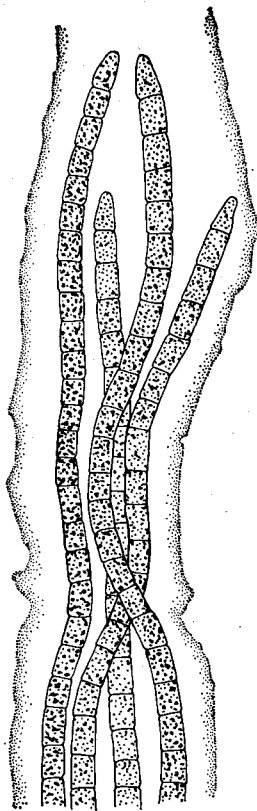


FIG. 12.

FIG. 12. — Cyanophycée : *Microcoleus chthonoplastes*.

(1) Ou Cyanophycées.

Les Cyanophytes se rencontrent dans les eaux douces ou salées, les vases, sur les rochers humides, mais aussi sur le sol, notamment dans les régions désertiques.

Certaines espèces sont capables d'attaquer les roches, surtout calcaires, en provoquant leur désagrégation progressive. D'autres vivent en associations lichéniques ou dans l'appareil végétatif des Bryophytes, les feuilles des Hydroptéridales, les racines des Cycadales.

Les principaux groupes intéressant la microbiologie du sol sont :

— les Chroococcales, unicellulaires vivant en colonies dans une gelée ou zooglée abondante (*Anacystis*, *Gloeocapsa*) (fig. 10) ;

— les Hormogonales, filamenteuses ; certaines possèdent des éléments dilatés à membrane épaisse ou « hétérocystes » (fig. 11) (*Nostoc*, *Anabaena*, *Cylindrospermum*, *Scytonema*, *Tolypothrix*).

D'autres sont dépourvues d'hétérocystes (*Oscillatoria*, *Microcoleus*, *Lyngbia*) (fig. 12).

2. **Les Algues proprement dites** sont, au contraire des Cyanophytes, des plantes eucaryotes, c'est-à-dire possédant un noyau typique, des plastes, mais par ailleurs fort diverses dans leur cycle de développement, leur mode de reproduction, leur morphologie. Leur classification repose, pour ce qui concerne les principaux groupes, sur des caractères cytologiques et biochimiques.

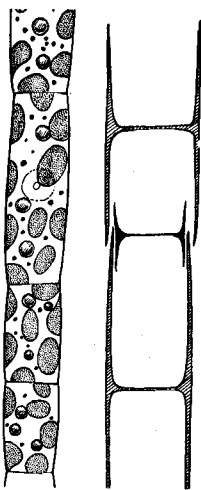


FIG. 13. — Xanthophycée : *Tribonema bombycinum*.

a) **Les Rhodophycocytes** sont définies par la présence de chlorophylle *a* associée à des caroténoïdes et à des pigments rouges ainsi que par l'absence d'amidon vrai localisé à des plastes. Ce sont essentiellement des plantes aquatiques, représentées seulement, dans les sols, par un genre dont l'organisation est rudimentaire, le genre *Porphyridium*, qui comprend des espèces unicellulaires ou coloniales.

b) **Les Chromophytes** possèdent les chlorophylles *a* et *c* et des caroténoïdes abondants qui leur donnent une teinte jaune à brune. Elles sont généralement dépourvues d'amidon.

On y rencontrera les Phéophycées ou Algues brunes mais celles-ci sont pratiquement absentes des sols à l'exception de certaines formes unicellulaires flagellées à noyau de type particulier (*Peridinium*, *Euglena*).

Les Xanthophycées ou Algues jaune-vert ont été longtemps confondues avec les Algues vertes. Elles possèdent des plastes d'un jaune doré ou verts et comprennent des formes unicellulaires mobiles grâce à deux flagelles inégaux, amiboïdes ou coccoïdes. On y trouve aussi des formes pluricellulaires, tantôt constituées d'enchaînements de cellules bivalves (*Tribonema*) (fig. 13) tantôt filamenteuses, sans cloisons transversales (thalle cénocytique siphonné des *Vaucheria*). Les Chrysophycées (exemple : *Ochromonas*) en sont proches.

Les Diatomées enfin sont unicellulaires ou coloniales et chaque individu est recouvert d'une enveloppe siliceuse ou « frustule » composée de deux valves délicatement ornementées (*Navicularia*, *Pinnularia*, *Nitzschia*, etc.).

c) *Les Chlorophycophytes* possèdent les chlorophylles *a* et *b*, des caroténoïdes assez peu abondants et de l'amidon contenu dans des plastes. Elles sont représentées, au niveau évolutif des Algues, par les Chlorophycées ou Algues vertes et par deux groupes principalement aquatiques et qui ne nous concernent guère (Zygophycées et Charophycées).

Les Chlorophycées les plus simples sont unicellulaires, mobiles ou non ; d'autres sont cénocytiques et alors filamenteuses ou parfois massives ; d'autres encore sont formées de files de cellules toutes identiques constituant ensemble des individus filamenteux. Enfin, dans les formes les plus perfectionnées, ces filaments s'associent en organes laminaires ou même massifs. Mais dans le sol les petites formes unicellulaires ou filamenteuses sont les seules représentées. C'est le cas des :

— Volvocales (*Chlamydomonas*, *Protococcus*, *Palmogloea*) unicellulaires ou coloniales, mobiles ;

— Chlorococcales, dépourvues de flagelles et d'ailleurs mieux représentées dans le sol (*Chlorella*, *Chlorococcum*, *Trebouxia*, ces dernières lichénisées) ;

— Ulothricales filamenteuses, mais montrant une certaine tendance à se dissocier en individus isolés (*Stichococcus*, *Hormidium*) ;

— Trentépothiales essentiellement aériennes ; ce sont des organismes filamenteux vivant sur les rochers, les troncs, les feuilles, surtout dans les régions tropicales humides. Les *Trentépothia* sont souvent lichénisées.

Les Zygophycées sont représentées dans le sol par quelques espèces filamenteuses ou unicellulaires : *Zygonium*, *Mesotaenium*, *Cosmarium*.

Ainsi, l'habitat terrestre et ses conditions peu favorables à un groupe de végétaux avant tout aquatique ne permettent le développement que de formes simples, unicellulaires ou coloniales ou encore filamenteuses, mais alors souvent réduites à quelques cellules.

Quand les circonstances leur sont favorables, ces individus microscopiques s'accumulent en si grand nombre qu'ils constituent à la surface du sol des croûtes ou des feutrages facilement visibles à l'œil nu. C'est le cas, dans les régions tempérées, des *Nostoc* qui apparaissent sous forme de petites plaques noirâtres mais gonflant rapidement après les pluies pour donner des masses mucilagineuses lobées appelées parfois vulgairement « crachats de la lune ». Dans les landes à Bruyère d'Europe, les Zygophycées peuvent recouvrir le sol d'un tapis pourpré. Des croûtes algales sont fréquentes sur les vases littorales comme dans les déserts du sud-ouest des Etats-Unis et dans les takyr. Ces derniers sont des plaines argileuses où la végétation dominante est représentée par des plaques gluantes composées principalement d'Algues bleues.

II. — NUMÉRATIONS, BIOMASSES

Dans la plupart des sols, les Algues sont beaucoup moins nombreuses que les Bactéries ou les Champignons. Mais dans certains milieux, elles revêtent une importance considérable et peuvent même parfois égaler en quantité les autres composantes de la microflore.

Du fait de leur caractère phototrophe, on les rencontre surtout à la surface même du sol ou à proximité immédiate de celle-ci. A ce niveau, le nombre des individus peut varier de quelques milliers à quelques millions par gramme de terre, ce qui correspond à des biomasses de 20 à 40 kg par hectare, pouvant doubler dans des conditions favorables et même dépasser une tonne lorsque le sol est recouvert d'une croûte bien développée (tableau IX).

Des chiffres aussi élevés ne se rencontrent d'ailleurs que pendant des périodes assez brèves, après les pluies. Ensuite la flore algale régresse jusqu'à sembler disparaître de

TABLEAU IX. — PRODUCTIVITÉ DE LA PHYCOFLORE DANS QUELQUES SOLS ZONAUX
(d'après SHTINA, 1959 et 1961)

TYPE DE SOL	NOMBRE EN MILLIERS	BIOMASSE EN kg/ha	REMARQUES
Takyr	—	500-1 400	Croûte superficielle (matière sèche)
Sol carbonaté	—	35-410	Croûte superficielle (matière sèche)
Sol châtain foncé	2 000-5 000	160-600	2 cm superficiels (poids frais)
Solonetz	600-5 000	74-515	2 cm superficiels (poids frais)
Chernozem	48	16	
Sol derno-podzolique	12-220	40-300	10 cm superficiels
Sol podzolique	5-30	7-20	
Tourbière	5-80	20-80	10 cm superficiels

sorte que les évaluations quantitatives fournissent des indications qu'il est assez difficile d'interpréter. Cependant, il faut remarquer avec SHTINA (1961) que la vitesse de croissance des Algues est considérable : leur nombre peut doubler en quelques heures et l'on est en droit de penser que la phycoflore fournit annuellement au sol des quantités appréciables de matière organique dont le rôle est important surtout durant les premières étapes de la pédogenèse.

III. — INFLUENCE DES FACTEURS ÉCOLOGIQUES

1° La profondeur

Les Algues vivent soit entre les particules de terre, à proximité immédiate de la surface, ou bien directement sur le sol où leur développement peut alors être visible à l'œil nu. C'est en effet à ces niveaux qu'elles trouvent les conditions d'éclairement nécessaires à leur croissance normale.

Ainsi, sur les sols châtaîns, SHTINA et BOLYSHEV (1962) signalent dans le centimètre superficiel une croûte dense composée d'Algues bleues et de Diatomées (Cénose Diatomées — *Nostoc* — *Scytonema*) dont les fluctuations correspondent aux différents types de sol de la série.

Plus profondément, jusqu'à une dizaine de centimètres, la population est réduite en nombre et comprend des Chlorophycées et Xanthophycées ubiquistes.

Dans l'Arizona, les Algues sont limitées à quelques millimètres en surface (CAMERON, 1964). Par contre, dans les environnements trop sévères, elles tendent à s'enterrer comme si un phototropisme négatif les conduisait à fuir une insolation trop intense. Ainsi, dans les vases des estuaires, elles ne sont pas toujours superficielles mais au contraire localisées à quelques millimètres de profondeur. Des minéraux translucides (quartz, dolomie), des efflorescences salines leur permettent de s'enfoncer à quelques centimètres de la surface. Elles trouvent ainsi une protection, peut-être contre des intensités lumineuses trop fortes, mais en tout cas contre une dessiccation trop rapide et des températures trop élevées. Dans les déserts, certaines espèces ne se maintiennent même qu'à la faveur de ces conditions particulières (fig. 14) (CAMERON et BLANK, 1966) ; dans les zones polaires, elles trouvent dans ces habitats une protection contre le froid.

Certaines espèces des déserts, surtout parmi les Algues bleues, présentent une adaptation très nette aux radiations UV qui stimulent leur croissance bien que celle-ci soit encore possible en des stations où l'intensité lumineuse n'est plus que de 10 %. On a même pu purifier des cultures de Cyanophycées par traitement aux UV. On sait d'autre

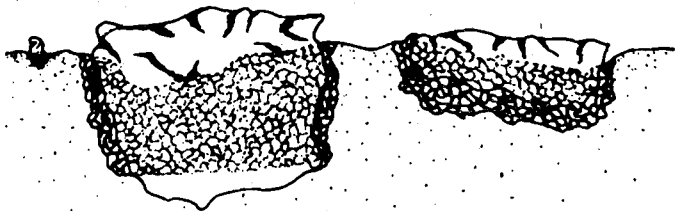


FIG. 14. — Croissance des Algues à l'abri de particules translucides de quartz dans les déserts du sud-ouest des Etats-Unis (d'après CAMERON, 1966).

part que les Algues sont parmi les végétaux chlorophylliens les moins exigeants vis-à-vis de la lumière puisque certaines espèces peuvent se contenter, dans les cavernes et les sous-bois obscurs, d'intensités lumineuses réduites à 0,05 %.

On pourrait ajouter ici que la sensibilité des Cyanophycées aux radiations ionisantes est également réduite. Alors qu'une dose de 1 100 krad (cf. p. 520) assure une stérilisation presque totale du sol, *Microcoleus vaginatus* supporte une irradiation γ de plus de 2 500 krad et se retrouve avec deux autres espèces dans le sol du terrain d'essais du Nevada après les explosions nucléaires (SHIELDS et DROUET, 1962).

Cependant on rencontre parfois des Algues dans le sol jusqu'à plusieurs mètres de profondeur. Mais leur nombre est alors très réduit : au-dessous de 5 cm, elles ne dépassent pas 20 000 par gramme de terre au Danemark alors qu'on en compte quelques millions en surface. Il s'agit alors de formes présentes aussi dans les horizons supérieurs et l'on s'est demandé si ce n'était pas de simples survivants entraînés par les pluies ou enfouis dans les labours et appelés à disparaître.

Certaines expériences semblent pourtant prouver l'aptitude des Algues vertes à vivre suivant un mode hétérotrophe, au moins en culture associée avec des Bactéries ou bien en hétérotrophie partielle quand l'éclairement est très réduit (PARKER, 1961) (tableau X). De même CAMERON signale la croissance d'une Algue verte des déserts de l'Arizona, à l'obscurité complète, mais en association sur papier avec une myxobactérie.

2° L'humidité

La pluviosité, le régime des pluies, le niveau de la nappe, la répartition générale de l'eau dans l'ensemble du profil agissent sur l'intensité de croissance et sur la composition spécifique des populations algales.

Les Algues, et en particulier les Chlorophycées, ont généralement des exigences élevées et l'eau est le principal facteur limitant leur répartition. Au fur et à mesure qu'augmente l'aridité, la diversité du peuplement diminue (SHTINA et BOLYSHEV, 1963).

Mais il est des Algues résistantes à la dessiccation et d'autre part les formes terrestres supportent assez mal l'inondation prolongée où la saturation des horizons superficiels. Dans ce dernier cas, se forment des associations semi-aquatiques.

L'optimum se situe, comme pour les autres micro-organismes vers 40 à 60 % de la capacité de rétention. Dans les régions à saison sèche marquée, par exemple dans la zone des steppes en URSS, les fluctuations de l'humidité entraînent des variations numériques de la population ; mais celles-ci sont beaucoup plus quantitatives que qualitatives et l'on ne peut mettre en évidence une succession saisonnière des espèces.

Certaines Algues se rencontrent en abondance dans des conditions de climat aride où elles doivent endurer la dessiccation pendant deux à quatre ans. Les mécanismes de la résistance des Cyanophycées à la sécheresse sont probablement divers : certaines espèces sont entourées de gaines mucilagineuses fortement hygroscopiques et susceptibles d'absorber 12 à 13 fois leur volume d'eau en quelques minutes pour ensuite se dessécher lentement entre les précipitations (DURRELL et SHIELDS, 1961). D'autres

espèces sont dépourvues de mucilage et leur résistance paraît liée à la formation de granulations cytoplasmiques de nature en partie glucidique. Ailleurs encore, on rencontre des cellules très résistantes à la plasmolyse et dont la pression osmotique est élevée, mais dont la signification est discutée. Quoi qu'il en soit, il est probable que la sécheresse laisse survivre certaines cellules et que ces dernières peuvent subsister pendant des années à l'état de repos.

TABLEAU X. — CROISSANCE HÉTÉROTROPHE DE L'ALGUE « BRACTEACOCUS »
(selon PARKER, 1961)

<i>Expérience I : Culture en présence de cendres d'extrait de sol ± glucose</i>			
Sans glucose	Lumière intense	nombre de cellules/ml	455×10^4
	Lumière faible	nombre de cellules/ml	2×10^4
Avec glucose	Lumière intense	nombre de cellules/ml	$1\,406 \times 10^4$
	Lumière faible	nombre de cellules/ml	690×10^4
<i>Expérience II : Culture à l'obscurité sur extrait de sol. Inoculum de $3,3 \times 10^3$ cellules par ml. Durée 14 mois</i>			
Culture pure		$2,5 \times 10^3$	
Culture associée avec une Bactérie		51×10^3	

3° Texture du sol

Pour SHTINA, son influence s'exerce par l'intermédiaire du régime hydrique.

En général, les sols argileux sont plus favorables que les sols légers, toutes autres conditions restant égales.

Les Algues et tout au moins les Diatomées pourraient être entraînées rapidement en profondeur par les précipitations à moins que la surface du sol ne soit compacte ; il faudrait ensuite quelque deux mois pour que la flore retrouve son importance initiale. Des phénomènes analogues empêcheraient la formation des croûtes superficielles caractéristiques des régions semi-désertiques. Mais pour CAMERON (1964), dans le sud de l'Arizona, il n'y a aucune relation entre la texture du sol et les compositions qualitative et quantitative de la population algale.

Pour les espèces saxicoles, la dureté de la roche ainsi que l'exposition sont déterminantes : des roches relativement tendres portent dans les stations directement insolées des flores semblables à celles que l'on observe sur les roches dures situées à l'ombre. On a décrit des espèces calcicoles et silicicoles mais la composition chimique du support a certainement moins d'importance que sa texture.

4° Sels minéraux

Si l'humidité n'est pas limitante, la richesse du sol en nutriments gouverne la luxuriance et la diversité de la population algale. De même une fumure minérale sur sol bien pourvu en matière organique permet souvent une prolifération massive des Algues. Sur les Cyanophycées, l'N minéral est sans effet, mais elles répondent favorablement à P, K et réclament en outre des quantités appréciables de Ca et Na et des traces de Co.

Dans certains sols, les Diatomées ne croissent qu'en présence de P et NO_3 abondants.

Il est d'ailleurs bien établi que les Algues, dans leur ensemble, sont particulièrement avides d'éléments minéraux.

5° Matière organique

Un certain nombre d'observations permettent de penser que les Algues, malgré leur autotrophie, sont stimulées par certaines substances organiques ou même exigent d'en recevoir.

Les sucres, les alcools, les acides organiques, la peptone sont utilisables à l'obscurité quand la plante vit sur un mode hétérotrophe ; mais ils sont aussi parfois favorables pour des cultures normalement éclairées. Ainsi certaines Cyanophycées réclament des acides organiques ou sont au moins stimulées par ceux-ci. *Anabaena cylindrica* peut utiliser les acides aminés et certaines souches en font autant pour la peptone. On connaît des Euglènes qui réclament aussi des acides aminés et certains *Oedogonium* exigent des facteurs de croissance (MACHLIS, 1962).

Pourtant, dans les conditions naturelles, il arrive que des fumures organiques soient défavorables (CAMERON, 1964), peut-être en raison de leur effet sur la microflore hétérotrophe qui, par compétition, freinerait la croissance des Algues.

Il faut retenir, en tout cas, que la quantité, la nature, le degré de décomposition de la matière organique disponible exercent une influence sur la phycoflore à la fois directement par les aliments qu'elle contient et indirectement parce qu'elle modifie les autres secteurs de la microflore et, par conséquent, leurs interactions avec les Algues, interactions qui ne sont certainement pas toujours antagonistes. Bien au contraire, on connaît des cas de stimulation par les Bactéries, peut-être parce qu'elles mobilisent l'N organique ou fixent l'N atmosphérique. L'abondance des Cyanophycées coïncide constamment avec une activité élevée des Bactéries et des Protozoaires et avec la richesse du sol en N. Les Algues sont peu abondantes dans les tourbières, en partie à cause de l'indisponibilité de la matière organique présente.

6° Salinité

La microflore algale des sols salés est moins diverse que celle des sols normaux : c'est le cas des solontchaks ; de même le nombre des espèces diminue avec la salure dans les sierozems de prairie et augmente avec la profondeur des horizons solonisés dans les solonetz.

Cependant, il existe des Algues jusque dans les terrains les plus salés : certaines espèces communes dans le désert d'Atacama au Chili vivent même à la surface de cristaux de sel simplement humides et jusqu'à une profondeur de 15 cm dans la couche salifère. *Nostoc muscorum* semble capable de se développer dans l'eau de la mer Morte, six fois plus concentrée que celle des océans.

Cette tolérance au sel intéresse surtout les Algues des régions arides et semble en relation avec leur résistance à la sécheresse.

Dans les déserts non salés elles sont encore soumises à des concentrations de 1 à 10 % de chlorures de sodium et de calcium, de sulfate de magnésium, de bicarbonate de calcium.

Porphyridium est stimulé par une salinité élevée et *Microcoleus vaginatus* n'est dominant que dans certains solonetz et takyr, en URSS.

7° Température

Certaines Algues présentent une résistance extraordinaire aux températures extrêmes. On connaît des Cyanophycées qui supportent une brève période de chauffage à 60 et même 90 °C quand elles sont humides et à 100 °C à l'état sec. Bien plus, CAMERON en a rencontré qui résistent à l'autoclavage 20 minutes à 115 °C, dans un milieu de culture au thioglycolate. Pourtant, en culture liquide, l'inhibition puis la mort surviennent en général au-dessus de 30 à 50 °C. Or on sait que la température des couches superficielles du sol, dans les stations ensoleillées peut être supérieure de 20 à 40 °C à celle de l'air. On a enregistré 88 °C dans la Death Valley aux Etats-Unis et 80 °C dans certains humus sombres, en montagne, quand le rayonnement lumineux est intense.

A l'autre extrémité de l'échelle des températures, on rencontre certaines Algues unicellulaires (chlamydomonades et coccoïdes) en surface de la neige qu'elles teintent de vert, de jaune ou de rouge. Dans ce cas, leur coloration est due à des pigments caroténoïdes accumulés quand l'éclairement est intense mais disparaissant après la fonte de sorte que les individus qui les contenaient passent au vert.

CAMERON (1966) a soumis des croûtes d'Algues bleues et vertes provenant des déserts de l'Arizona, à des températures continues durant plusieurs jours, de -79 et -195 °C ainsi qu'à des alternances de ces mêmes températures et de +20 °C sans observer de diminution de leur vitalité.

Il n'en reste pas moins que l'hiver, dans les régions tempérées et arctiques, entraîne une diminution du nombre des individus et que celle-ci peut être attribuée en partie au froid qui provoquerait leur déshydratation.

8° Influence du pH

Elle est moins évidente au premier abord que celle de l'humidité et, d'ailleurs, il arrive que les deux facteurs soient liés de sorte que leurs importances respectives sont difficiles à évaluer : souvent les sols arides sont alcalins et les sols acides demeurent plus constamment humides. En outre le rôle du pH varie suivant les autres caractéristiques du sol.

Pourtant, si l'approvisionnement en eau n'est pas limitant, le taux de saturation en bases contribue, en même temps que l'humidité, à déterminer les caractéristiques de la phycoflore.

On sait que, en règle générale, les Algues sont peu sensibles aux variations du pH et pourtant il arrive qu'elles soient rares au-dessous de pH 6. Les valeurs moyennes, proches de la neutralité ou légèrement alcalines, sont plus favorables et hébergent les populations les plus variées sinon les plus nombreuses.

Les Chlorophycées et les Zygothécées sont, dans l'ensemble, les plus tolérantes vis-à-vis de l'acidité et constituent en Angleterre, par exemple, l'essentiel de la phycoflore dans certains sols de pH 3,7 à 4,8.

Les Cyanophycées sont beaucoup plus sensibles : si elles peuvent encore végéter à pH 5 ou même parfois 4, l'optimum pour leur croissance s'établit entre 6,8 et 8,5 : elles sont nombreuses dans les sols de pH 9,3 à 10 et tolèrent même jusqu'à pH 13. On les rencontrera donc principalement dans les sols largement pourvus en bases. Cette remarque explique pourquoi le chaulage, dans les rizières, peut exalter la croissance des Cyanophycées fixatrices d'N et contribuer ainsi à la fertilisation ; cet effet se retrouve même si le sol est normalement saturé.

Enfin les préférences des Diatomées sont moins bien connues mais paraissent analogues à celles des Algues bleues.

9° Mise en culture

On dispose d'un certain nombre de données numériques recueillies pour la plupart en URSS mais qu'il est difficile d'interpréter.

Elles permettent de dire que la mise en culture d'un sol modifie profondément la répartition des Algues dans le profil et la composition quantitative et qualitative de la phycoflore.

Les Algues sont proportionnellement moins rares dans les régions profondes de la couche arable que dans un sol vierge au même niveau. Peut-être le travail du sol n'est-il pas étranger à ce premier changement.

Les sols cultivés sont généralement plus favorables aux Algues que les sols vierges correspondants, probablement en raison des façons dont ils font l'objet et des fumures qu'ils reçoivent.

Le nombre d'individus par gramme de terre y est plus élevé ; mais parfois cette relation est inversée.

Le peuplement est plus divers, c'est-à-dire que le nombre des espèces est plus important ; mais là aussi il y a des exceptions.

Enfin l'équilibre entre les différents groupes systématiques est modifié. Parfois la mise en culture favorise d'abord les Algues vertes mais, par la suite, les Cyanophycées voient leur nombre augmenter plus ou moins nettement et ceci pourrait être fort intéressant pour la productivité du système dans la mesure où les espèces favorisées sont capables de fixer l'N atmosphérique.

Mais on conçoit facilement que les règles présidant à ces modifications soient influencées par le climat et la saison, par les caractéristiques du sol, par le mode d'exploitation de celui-ci.

IV. — LES RELATIONS ENTRE ALGUES ET VÉGÉTAUX SUPÉRIEURS

Elles comprennent des phénomènes de compétition et d'association.

— Les Algues, avides d'aliments minéraux, pourraient capter ceux-ci aux dépens des Phanérogames. Mais il semble plutôt que leur effet soit bénéfique en ce sens qu'elles limitent le lessivage et la rétrogradation des éléments solubles dans les terres cultivées, entre les périodes de végétation. C'est le cas notamment pour le P qui est ensuite facilement libéré à la mort des cellules.

Les phénomènes de compétition semblent plutôt jouer en faveur des végétaux supérieurs et portent, non seulement sur les aliments inorganiques, mais aussi sur la lumière et l'eau. En général les Algues régressent quand la végétation s'installe sur un sol nu.

Cependant, on dit que, dans les takyrs, la prolifération du tapis algal au printemps peut être tellement massive qu'elle entrave le développement des plantules.

— Les Algues, malgré leur caractère phototrophe, sont plus nombreuses au voisinage et à la surface des racines de nombreuses plantes cultivées, principalement les céréales d'hiver et les espèces vivaces. Les Légumineuses favorisent les Algues vertes, les céréales les Algues bleues et les Diatomées (SHTINA, 1957). Encore faut-il noter que cet effet rhizosphère est faible avec des coefficients R/S de 1,1 à 2,9 et qu'il ne se manifeste pas dans tous les sols. Il n'intéresse les Cyanophycées que dans quelques cas (sols châtain pâle, chernozems, rizières) ou après inoculation.

Réciproquement, les Algues ont un effet stimulant sur la croissance des racines et celui-ci est dû, non pas à la fixation d'N, mais à des substances actives présentes dans les filtrats de cultures y compris dans le cas des Chlorophycées (SHTINA et coll., 1964).

V. — RÉPARTITION

Selon SHTINA (1959) les sols zonaux d'URSS hébergent des groupements d'Algues variables et déterminés moins par des facteurs géographiques que par les conditions

écologiques locales. Ces groupements comprennent des espèces ubiquistes, sans signification différentielle, mais aussi un nombre plus ou moins élevé de formes très différentes suivant les sols et les processus pédogénétiques, à tel point que la composition qualitative de la phycoflore, son abondance, l'équilibre entre les groupes systématiques et l'identité des espèces dominantes pourraient être des indices précieux pour la caractérisation des types pédologiques. En dehors de l'URSS, les études disponibles concordent bien avec les résultats de SHTINA dans la mesure où les préoccupations et les méthodes, bien différentes, de leurs auteurs permettent des comparaisons (tableau XI).

Nous nous contenterons d'indiquer ici sommairement les préférences des principaux groupes systématiques.

TABLEAU XI. — RÉPARTITION DES ALGUES DANS LES SOLS DE L'URSS
(Nombre d'espèces ; selon SHTINA, 1959)

SOLS	CYANOPHYCÉES	CHLOROPHYCÉES	XANTHOPHYCÉES	DIATOMÉES	DIVERS.
Podzoliques	17	40	10	17	1
Derno-podzoliques	54	59	30	30	4
Forestiers alluviaux	52	43	11	34	1
Gris forestiers	15	30	12	19	—
Solods	19	49	11	15	—
Chernozems typiques	30	27	11	6	—
Chernozems méridionaux	16	9	1	2	1
Châtains foncés	34	19	7	6	—
Solonetz de steppe	40	27	7	7	—
Solonetz forestiers	39	30	7	27	1
Sierozems	29	21	2	7	—
Takyr	92	38	5	12	—

Les Algues vertes sont surtout abondantes sous les climats tempérés, sur sol acide et frais, sous couvert forestier (podzols, sols hydromorphes, sierozems, soloths). De même, elles sont dominantes dans la zone des toundras. Mais elles peuvent l'être aussi dans les régions subtropicales et tropicales humides, pendant les saisons fraîches.

Les Cyanophycées forment au contraire le groupe le plus nombreux dans les sols, aussi bien des régions chaudes en milieu submergé (rizières), que dans la zone des steppes (sols châtains, certains chernozems et solonetz) et dans les déserts et semi-déserts d'Amérique (entisols, aridisols). Il en va de même dans les sols carbonatés de l'Inde. Enfin, les Algues bleues sont assez abondantes dans les déserts du froid, en Alaska ou dans l'Antarctique et l'on y retrouve à peu près les mêmes espèces principales que dans les zones arides (*Microcoleus*, *Nostoc*).

Les Xanthophycées se rapprochent des Chlorophycées par leur répartition bien que celle-ci soit peut-être moins vaste.

Quant aux Diatomées, elles sont largement distribuées et parfois dominantes dans certains sols steppiques de l'URSS, mais, en général, l'aridité leur est peu favorable ainsi qu'une hydromorphie trop importante.

VI. — RÔLE DES ALGUES

1° Les Algues assimilent le CO_2 atmosphérique et semblent particulièrement aptes à retenir et assimiler l'N combiné des pluies et des poussières. Nous savons d'ailleurs (p. 176) que certaines Cyanophycées fixent activement l'azote élémentaire. Les populations algales apportent donc au sol des matières organiques riches dont le C/N est souvent inférieur à 10 et peut s'abaisser à 3,5.

Dans les régions fertiles où la végétation est bien développée, de tels apports organiques sont sans doute négligeables, mais il en va tout autrement dans les terrains pauvres ou bien dans les sols insuffisamment fertilisés et où la population algale est abondante (rizières).

Les Algues libres ou lichénisées constituent le stade initial de la végétation des roches et des sols minéraux infertiles : terrains salés, déserts depuis les pôles jusqu'aux tropiques, sols dégradés par l'érosion ou par le feu, laves et cendres volcaniques.

Ainsi, dans les déserts, les Algues colonisent surtout les microhabitats les moins rudes : bords des plans d'eau, dépressions, face inférieure de minéraux translucides. Des espèces mésophiles peuvent même s'y développer temporairement. Elles y sont accompagnées de Bactéries aérobies avec lesquelles elles constituent une cénose primaire s'exprimant, là où les conditions le permettent, c'est-à-dire là où l'eau stagne temporairement, par la formation de croûtes algales. Dans certaines stations s'installent des Champignons qui s'associent aux Algues pour former des croûtes lichéniques, puis apparaissent des Mousses et de petits animaux (CAMERON et BLANK, 1966). L'ammonification, parfois même la nitrification sont intenses et ceci prélude à l'établissement éventuel de végétaux supérieurs. Des remarques analogues ont été faites dans les régions arctiques (ROJZIN, 1960).

2° Le développement des Algues sur les roches s'accompagne d'altérations superficielles conduisant à la formation de graviers et de sables, puis de complexes organominéraux. Ainsi, dans le désert arctique (ROJZIN, 1960), les Lichens et des Algues vertes associées à des Bactéries asporulées représentent les premiers organismes attaquant les roches nues. Sous leur action se forme un sol primitif où s'installent Champignons et Bactéries ammonifiantes et dénitrifiantes.

Inversement, sur les sols minéraux meubles, les croûtes lichéniques et algales fixent le sol, freinent l'érosion et modifient le régime hydrique en réduisant l'évaporation, mais aussi en favorisant le ruissellement. Leurs mucilages contribuent à assurer la stabilité structurale.

Ainsi, les tapis superficiels gluants qui recouvrent les takyrs et qui sont constitués d'Oscillatoriales provoquent la dégradation des silicates d'alumine et permettent le lessivage et la solodisation.

3° Les Algues contribuent à déterminer l'équilibre biologique du sol. A la lumière, elles dégagent de l'oxygène qui pourrait contribuer à l'aération de l'eau des rizières, peut-être même à celle des sols lourds.

Consommant le CO_2 , et libérant des substances alcalines, elles tendent à élever le pH du sol et l'on a même envisagé leur utilisation pour combattre l'acidité.

Elles interviennent encore par les substances stimulantes qu'elles excrètent (vitamines, auxines) ou par leurs actions inhibitrices sur certaines fractions de la microflore (cf. p. 696).

Enfin, on se rappellera leur rôle dans la fixation de l'N élémentaire et dans le maintien des cations sous forme échangeable.]

CHAPITRE V

LES PROTOZOAIRES

Les Protozoaires constituent un groupe très hétérogène de Protistes eucaryotes, unicellulaires et mobiles dont la taille, qui varie entre quelques microns et un ou plusieurs centimètres, a tendance à être beaucoup plus petite dans le sol que dans l'eau. Cette réduction de taille résulterait, d'après RUSSELL (1961), du fait que les Protozoaires du sol doivent se mouvoir dans le film d'eau — d'épaisseur souvent réduite — qui tapisse les pores du sol, alors que les formes aquatiques disposent d'un espace non limité.

Pendant longtemps, les Protozoaires furent classés dans le règne animal en raison de leur mobilité et de leur absence de pouvoir photosynthétique. Ce sont, en réalité, des Protistes eucaryotes au même titre que les Champignons ou les Algues. Bien que, sauf exception (*Phytomastigophora*), les Protozoaires soient dépourvus de chlorophylle, ils présentent des affinités certaines avec les Algues, dont ils auraient pu évolutivement dériver et dont ils différeraient essentiellement par la perte irréversible des chloroplastes fonctionnels.

Le cycle de vie des Protozoaires comporte deux phases :

1° *une phase d'activité*, pendant laquelle ils se déplacent, se nourrissent et se reproduisent ;

2° *une phase de repos (phase d'enkystement)*, pendant laquelle ils sont inactifs.

L'enkystement résulte de la sécrétion par la cellule d'une enveloppe épaisse qui la protège contre les agents physiques et chimiques défavorables : chaleur, dessiccation, acides, enzymes, etc.

La plupart des Protozoaires non parasites ont la réputation d'être des micro-organismes aquatiques ; mais un grand nombre d'entre eux se développent parfaitement dans les sols hydromorphes et même dans des sols normalement exondés, où ils apparaissent comme des constituants normaux de la microflore tellurique à côté des Bactéries, Actinomycètes, Algues et Champignons. La majorité des Protozoaires semblent cosmopolites, puisqu'on les retrouve dans les différents sols du monde entier (POCHON et DE BARJAC, 1958 ; SINGH, 1963).

I. — CLASSIFICATION

On divise habituellement les Protozoaires en quatre classes principales :

1^o classe des *Sarcodina* ou *Rhizopodes* (Amibes et Testacés), constituée d'espèces formant des pseudopodes à l'état adulte ;

2^o classe des *Mastigophora* ou *Flagellés*, se déplaçant à l'aide de flagelles mais pouvant aussi, chez certaines espèces, présenter des mouvements amiboïdes ;

3^o classe des *Sporozoa* ou *Sporozoaires*, exclusivement parasites, donc sans intérêt en biologie du sol ;

4^o classe des *Ciliophora* ou *Ciliés*, groupe très distinct et très spécialisé se déplaçant à l'aide d'organites contractiles très courts appelés cils et caractérisés par une organisation nucléaire particulière (deux types de noyaux : macronucleus et micronucleus).

TABLEAU XII. — CLASSIFICATION DES PROTOZOAIRES TELLURIQUES

CLASSES	CARACTÈRES PRINCIPAUX	GROUPES	GENRES TELLURIQUES TYPIQUES
SARCODINA (Rhizopodes)	Protozoaires les plus simples ; se déplaçant par des pseudopodes ; deux groupes suivant la présence ou non d'un test dur recouvrant la cellule	<i>Rhizopodes</i> <i>amibes</i> Pas de test	<i>Naegleria</i> <i>Hartmanella</i> <i>Lecythium</i> <i>Nuclearia</i>
		<i>Rhizopodes</i> <i>testacés</i> (<i>Testacea</i>) Test présent	<i>Diffugia</i> <i>Trinema</i> <i>Euglypha</i> <i>Centropyxis</i>
MASTIGOPHORA (Flagellés)	Protozoaires pourvus d'un ou plusieurs flagelles ; nombreuses espèces dotées de pseudopodes et présentant donc des caractères amiboïdes ; deux groupes suivant la présence ou l'absence de chlorophylle	<i>Phytomastigophora</i> Photosynthétiques	<i>Euglena</i> <i>Clamydomonas</i>
		<i>Zoomastigophora</i> Non photosynthétiques	<i>Hétéromita</i> <i>Allantion</i> <i>Oikomonas</i> <i>Scytomonas</i> <i>Cercomonas</i> <i>Bodo</i> <i>Tetramitus</i> <i>Cercobodo</i>
CILIOPHORA (Ciliés)	Protozoaires les plus spécialisés ; dotés de cils pendant la phase adulte ; organisation nucléaire particulière caractérisée par la présence de deux noyaux		<i>Colpoda</i> <i>Gonostomum</i> <i>Pleurotricha</i> <i>Balantiophorus</i> <i>Enchelys</i> <i>Oxytricha</i>

Le tableau XII résume ces caractéristiques et indique les principaux genres les plus répandus dans le sol. Pour une description détaillée des espèces et une connaissance plus approfondie de leur systématique, on se reportera à des ouvrages spécialisés tels que ceux de GRASSÉ (1952-1953), KEVAN (1955) et BONNET (1964).

II. — NUTRITION

Suivant leur mode de nutrition, les Protozoaires peuvent se classer en trois groupes :

a) **Protozoaires photosynthétiques.** — Ce sont les *Phytomastigophora*, dotés de pigments chlorophylliens diffus ou localisés, rattachés souvent aux Algues. L'importance pratique de ce groupe est très limitée. Le genre le plus répandu est le genre *Euglena*.

b) **Protozoaires saprophytes.** — Ils se nourrissent de substances organiques solubles diffusant à travers le protoplasme. Ce groupe renferme surtout des Flagellés et quelques Ciliés.

c) **Protozoaires holozoïques.** — A ce groupe, qui renferme surtout des Ciliés, appartient une grande partie des Protozoaires telluriques. La nutrition se fait par ingestion de particules solides et notamment par ingestion d'autres micro-organismes : Bactéries essentiellement, mais aussi Levures, Algues et certains Protozoaires.

1° **Consommation de Bactéries.** — La plupart des Protozoaires du sol peuvent se nourrir à partir de nombreuses espèces bactériennes ; mais les Bactéries présentent

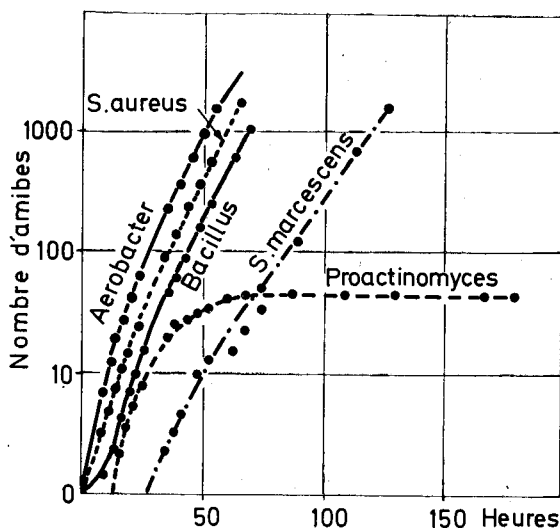


FIG. 15. — Influence de la nature des espèces bactériennes sur la croissance d'une population d'Amibes (d'après KUNICKI-GOLDFINGER et coll., 1957).

une valeur nutritive très variable (fig. 15) et certaines produisent des substances toxiques vis-à-vis des Protozoaires (SINGH, 1963 ; STOUT et HEAL, 1967). VELDKAMP (1968) suggère que les polysaccharides extracellulaires que synthétisent de nombreuses espèces bactériennes les protégeraient contre l'attaque par les Protozoaires.

2° Consommation de Levures. — Les Levures telluriques, dont la densité peut atteindre facilement de 50 000 à 500 000 unités/g de sol, pourraient parfois constituer un apport nutritif non négligeable pour les Protozoaires.

3° Consommation de Champignons autres que les Levures. — Les hyphes ne sont pas utilisées par les Amibes ; les spores peuvent être ingérées à condition d'être mouillables, mais sont rarement digérées.

4° Consommation d'Actinomycètes. — Comme les Champignons autres que les Levures, ces micro-organismes ne semblent pas constituer des aliments valables pour les Protozoaires, à l'exception de certaines souches de *Nocardia* (*Proactinomyces*) et *Mycobacterium*. En outre, les Actinomycètes producteurs d'antibiotiques actifs contre les Protozoaires (exemple : chloromycétine, néomycine, actidione, etc.) pourraient exercer une action antagoniste puissante vis-à-vis de ces micro-organismes (STOUT et HEAL, 1967).

III. — CULTURE

a) **Les Protozoaires photosynthétiques** poussent sur des milieux identiques à ceux préconisés pour les Algues.

b) **Les Protozoaires saprophytes** se développent sur des milieux synthétiques à base de peptone, glucides, acides aminés ou à base d'extraits de sol, de foin, de fumier, pour lesquels on a proposé diverses formules (voir par exemple SINGH, 1963).

c) **Les Protozoaires holozoïques**, c'est-à-dire les Protozoaires se nourrissant de cellules microbiennes, sont, pour la plupart, mis en évidence sur des milieux à base de cultures bactériennes, tel le milieu que nous décrivons ci-dessous à titre d'exemple. On coule dans des boîtes de Petri de 10 cm de diamètre, une gélose non nutritive (10 à 15 ‰ de gélose et 5 ‰ NaCl) sur laquelle on étale sous forme de quatre taches d'environ 2,5 cm de diamètre, une suspension épaisse de Bactéries facilement consommables (*Aerobacter* sp.). L'on dépose au milieu de chaque tache bactérienne un petit agrégat du sol à étudier et l'on observe au microscope après une incubation d'une ou plusieurs semaines à 20 ou 22 °C (BURGES, 1958 ; SINGH, 1963).

IV. — FACTEURS ÉCOLOGIQUES RÉGISSANT LA DISTRIBUTION ET L'ACTIVITÉ DES PROTOZOAIRES DANS LE SOL

La distribution des Protozoaires dans le sol est, en général, calquée sur celle des Bactéries, ce qui s'explique par le fait que les Bactéries constituent la base de leur alimentation. Lorsque la densité bactérienne s'accroît localement, on peut donc s'attendre à une augmentation concomitante de la densité des Protozoaires et inversement. Ainsi, la stimulation des populations bactériennes, fréquemment observée dans la rhizosphère, y induit une multiplication des Protozoaires ; mais lorsque l'effet rhizosphérique favorise électivement les Champignons ou les Actinomycètes, il y a, au contraire, régression des Protozoaires (GEL'TSER, 1963).

L'humidité intervient manifestement car les Protozoaires ont des affinités aquatiques très nettes ; mais cela ne signifie nullement que les sols très secs soient dépourvus de Protozoaires. BONNET (1964) a démontré la présence de certains Protozoaires (Rhizopodes testacés) — en petit nombre, il est vrai — dans des sols sahariens en présence de végétaux et dans divers lithosols très secs, où ils peuvent résister à l'effet de la dessiccation grâce à l'enkystement.

Le comportement des Protozoaires vis-à-vis de la concentration en ions hydrogène dans le milieu varie d'une espèce à l'autre : il existe des espèces acidiphiles, neutrophiles et basiphiles.

Dans le cadre d'un même type pédologique, la distribution verticale des Protozoaires varie suivant les espèces considérées. On peut toutefois admettre que la plupart d'entre elles sont plus abondantes en surface, c'est-à-dire dans les 15 premiers centimètres, car elles trouvent une nourriture bactérienne plus abondante et une meilleure aération. La distribution verticale des Protozoaires présente de grandes variations d'un type pédologique à l'autre (STOUT et HEAL, 1967).

L'effet de la stérilisation partielle du sol — par la vapeur ou le formol par exemple — a fait l'objet de nombreux travaux, d'où il n'a malheureusement pas été possible de tirer de conclusions générales car les modifications de l'équilibre biologique induites par ce traitement sont non seulement d'une grande complexité, mais varient aussi considérablement suivant les sols et les modes de stérilisation.

V. — IMPORTANCE ET RÔLE DANS LE SOL

1° Densité et biomasse des Protozoaires dans le sol

La densité des Flagellés et Amibes est de l'ordre de 10^3 à 10^5 /g de sol ; celle des Ciliés est de l'ordre de 10^3 /g de sol ; quant aux Rhizopodes testacés, on signale fréquemment des populations de 10^3 à 10^4 /g de sol. Les biomasses correspondantes sont

difficiles à estimer ; elles seraient de l'ordre de la centaine de kg par hectare pour les Amibes et de la dizaine de kg par hectare pour les Rhizopodes testacés (GHILAROV, 1955 ; STOUT et HEAL, 1967).

2° Hypothèses relatives au rôle des Protozoaires dans le sol

a) *Limitation de la multiplication des Bactéries.* — Des expériences conduites sur des modèles biologiques simplifiés constitués par un sol stérile ensemencé 1° avec une Bactérie, 2° avec une Bactérie et un Protozoaire, démontrent clairement qu'en présence du Protozoaire, la densité bactérienne diminue rapidement au bout de quelques jours (CUTLER, 1923). On a autrefois déduit d'expériences de ce type que les Protozoaires réduisaient l'intensité des processus biochimiques d'origine bactérienne et pouvaient, en conséquence, s'avérer défavorables au maintien de la fertilité dans les sols. Cette interprétation est actuellement abandonnée et l'on admet, au contraire, que la destruction d'une partie des Bactéries stimule, en définitive, leur activité biochimique. A l'appui de cette thèse, viennent des expériences mettant en évidence la stimulation de certaines activités biochimiques bactériennes sous l'effet de Protozoaires prédateurs : différents chercheurs ont démontré une stimulation de l'ammonification (MEIKLEJOHN, 1932) et fréquemment une augmentation de la fixation d'azote (voir les revues de SINGH, 1963 et de STOUT et HEAL, 1967). Mais l'origine de cette stimulation reste obscure. On a avancé, sans toutefois les avoir étudiées sérieusement, l'hypothèse d'un rajeunissement des micropopulations, celle d'une accélération du turnover bactérien, celle de la synthèse par les Protozoaires de substances favorables à l'activité bactérienne.

b) *Action rhizosphérique.* — Il est bien établi que, sauf exception déjà signalée (p. 67), les Protozoaires peuvent se développer dans la rhizosphère de nombreuses plantes (KATZNELSON, 1965), où ils pourraient jouer 1° un rôle indirect en ralentissant la prolifération des Bactéries ou en stimulant leur activité, 2° un rôle direct en synthétisant des substances exerçant une action sur le développement des plantes supérieures (NIKOLYUK, 1963).

c) *Dissémination des spores fongiques.* — Les Protozoaires holozoïques pourraient participer à la dissémination des spores fongiques en les ingérant, puis en les libérant (lorsqu'ils ne les digèrent pas, ce qui est fréquent) en un point différent du lieu d'ingestion. HEAL (1963) a ainsi calculé que des Amibes pourraient déplacer des spores fongiques de 2 cm en 24 heures.

3° Rôle effectif des Protozoaires dans le sol

Les Protozoaires prédateurs jouent un rôle certain dans l'équilibre biologique des sols puisqu'ils consomment de très grandes quantités de cellules bactériennes : un Rhizopode utilise environ 40 000 Bactéries par division cellulaire (ALEXANDER, 1961).

Mais on ignore encore actuellement les conséquences de cette consommation importante de Bactéries. Il est donc souhaitable que l'on reprenne et que l'on développe à l'aide de techniques modernes les recherches sur l'écologie des Protozoaires, qui avaient connu un beau développement au début de ce siècle.

Quant à la participation des Protozoaires aux processus de dégradation ou de synthèse de la matière organique dans le sol, elle est également très mal connue ; mais cet aspect de l'activité des Protozoaires est vraisemblablement beaucoup moins important que leur rôle en tant qu'agents prédateurs.

CHAPITRE VI

LES VIRUS

A côté des Bactéries, Actinomycètes, Champignons et Algues, qui sont des organismes visibles au microscope optique, le sol renferme des micro-organismes submicroscopiques dont l'existence ne peut être démontrée que par microscopie électronique. Il s'agit essentiellement de *virus*, *virus pathogènes des végétaux ou des animaux* et *virus des Bactéries ou des Actinomycètes ou phages*. Le sol renferme aussi d'autres organismes submicroscopiques, notamment des formes naines de Bactéries que le microscope optique est impuissant à déceler (NIKITIN, 1965).

Nous évoquerons ici très rapidement le problème des virus en nous limitant à quelques aspects du parasitisme des bactériophages vis-à-vis de Bactéries telluriques et de la conservation dans le sol des virus des végétaux et des animaux.

Rappelons brièvement deux des principales caractéristiques des virus :

1° *Ce sont des organismes de très petite taille* : celle-ci est de l'ordre de 10 à 100 $m\mu$; le virus de la mosaïque du Tabac, qui est déjà assez gros, a la forme d'un bâtonnet de 300 $\times$ 15 $m\mu$; le coliphage T₂ a la forme d'un têtard dont la tête a 95 $\times$ 65 $m\mu$ et la queue 100 $\times$ 25 $m\mu$.

2° *Ce sont des parasites intracellulaires stricts* : même s'ils peuvent survivre dans le milieu extérieur, ils se multiplient seulement à l'intérieur des cellules hôtes, car leur équipement enzymatique est très réduit.

La spécificité des virus vis-à-vis de leur hôte a conduit à une classification fondée sur la nature de l'hôte infecté (plantes, animaux, Bactéries ou Actinomycètes) qui a, depuis, été remplacée par une classification moderne établie à l'aide de caractères biochimiques et morphologiques qu'il serait trop long de présenter ici.

I. — LES PHAGES

Les phages sont des virus qui parasitent les Bactéries (bactériophages), les Actinomycètes (actinophages) et les Cyanophycées (cyanophages) (fig. 16) ; on ne connaît pas de phages attaquant les Champignons, Levures et Algues autres que les Cyanophycées.

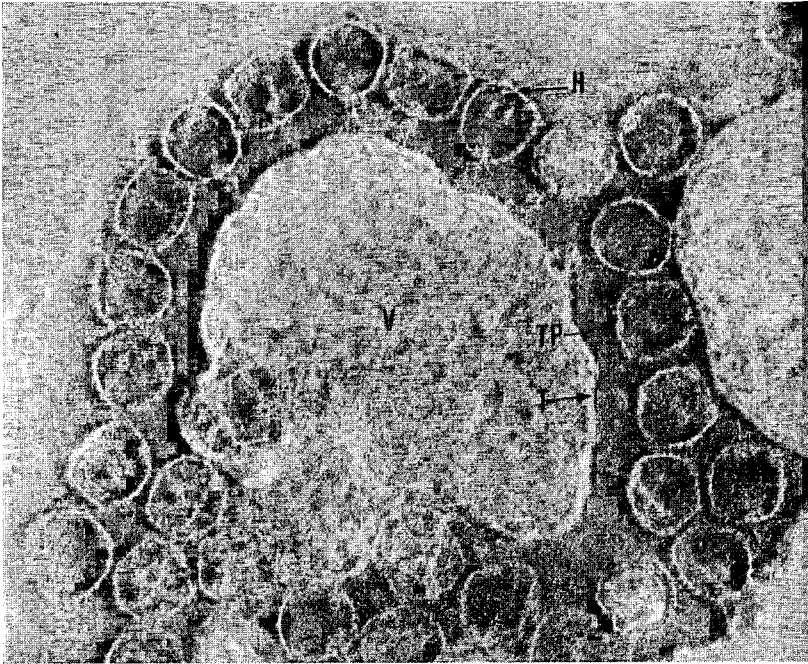


FIG. 16. — *Cyanophycée* (*Plectonema boryanum*) infectée par un cyanophage. Sur le cliché on distingue parfaitement la tête des Virus (H) et la queue (T) fixée sur une vésicule interne de l'Algue (V) (PADAN et coll., 1967).

Ces virus complexes sont dotés d'une queue creuse par laquelle ils se fixent à la surface de la cellule hôte, y injectant leur matériel génétique. Ils se multiplient ensuite dans la cellule hôte. Le processus, qui dure, suivant les cas, de 10 minutes à 5 heures ou plus, aboutit à la lyse de la cellule hôte, c'est-à-dire à la destruction de la membrane et à la libération dans le milieu des particules phagiques qui sont au nombre de 100 à 200 en moyenne. Si la lyse porte sur une culture bactérienne sur agar, elle se traduit par l'apparition de zones lytiques à limites plus ou moins nettes à l'emplacement de chaque particule phagique apportée par l'ensemencement. Les phages diffèrent par leur activité lytique : certains provoquent une lyse complète et rapide, d'autres une lyse lente et partielle.

Pour mettre en évidence la présence dans un sol d'un bactériophage spécifique, on enrichit en virus un échantillon de ce sol par incubation en présence de la Bactérie hôte de ce virus ; puis on ensemence avec une suspension de ce sol un milieu nutritif préalablement inoculé avec l'hôte. Après 24 à 40 heures, on filtre la suspension lysée et on vérifie son aptitude à lyser une culture bactérienne fraîche (ALEXANDER, 1961). Des méthodes fondées sur ce principe ont permis de montrer que les phages sont très largement distribués dans les sols. On a, en particulier, isolé des phages se développant

aux dépens de Bactéries appartenant aux genres suivants : *Azotobacter* (cf. p. 167), *Rhizobium* (cf. p. 623), *Aerobacter*, *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Pseudomonas* (CONN et coll., 1945 ; ROSLYCKY et coll., 1963 ; MIRSYUREVA ET RAUTENSSTEIN, 1964).

On ignore l'importance exacte des phages sur le plan agronomique : les recherches, pourtant assez développées, sur les phages du *Rhizobium* ou rhizobiophages n'ont pas permis de préciser avec certitude le rôle de ces virus dans la nature ; on se reportera à ce sujet à la discussion, page 623.

II. — LES VIRUS DES VÉGÉTAUX ET DES ANIMAUX

Les virus des végétaux — et éventuellement ceux des animaux — ne sont pas des virus telluriques puisqu'ils ne peuvent se multiplier dans le sol ; mais ils peuvent y subsister plus ou moins longtemps. L'étude de la persistance des virus végétaux et animaux dans le sol est encore à peine ébauchée ; mais on peut, dès maintenant, discerner deux modes de conservation des virus dans le sol :

1° *conservation dans les tissus du vecteur* (Nématode ou Champignon, par exemple) *ou dans les débris végétaux* (SAITÔ et coll., 1964 ; CADMAN, 1965) ;

2° *conservation à l'état adsorbé sur les colloïdes organiques ou minéraux* (cf. p. 474).

DEUXIÈME PARTIE

**INFLUENCE DE LA MICROFLORE
SUR LE MILIEU ÉDAPHIQUE**

CHAPITRE PREMIER

LES ENZYMES DU SOL

Les différentes transformations que subissent les fractions organiques du sol ne sont pas seulement le fait de micro-organismes vivants, mais aussi d'enzymes diverses qui interviennent indépendamment de ces micro-organismes. On reviendra ultérieurement (cf. p. 81) sur l'origine des *enzymes du sol* : mais il est nécessaire d'indiquer dès maintenant qu'il s'agit d'une part d'enzymes extracellulaires excrétées dans le sol par les organismes qui s'y développent (exemples : protéinases ou cellulases), d'autre part d'enzymes intracellulaires libérées lors de la mort des cellules (végétales, animales ou microbiennes) à la suite de la rupture de leur paroi. Bien qu'une partie de ces catalyseurs biologiques soient rapidement biodégradés ou dénaturés dans l'environnement tellurique après leur libération dans le sol, une autre partie conserve son activité pendant un temps plus ou moins long.

L'enzymologie du sol pose de nombreux problèmes que nous évoquerons successivement : mise en évidence, origine, état et site de l'activité, facteurs édaphiques réglant la répartition et l'activité des enzymes, rôle effectif. On pourra aussi se reporter à ce sujet aux revues publiées au cours des dernières années par KISS (1961), HOFMANN (1963), BRIGGS et SPEDDING (1963), DURAND (1965) et SKUJINS (1967).

A. — MISE EN ÉVIDENCE ET MESURE DE L'ACTIVITÉ ENZYMATIQUE DU SOL

Par *activité enzymatique du sol*, on entend l'activité qui s'exerce en dehors de toute intervention de micro-organismes vivants.

Pour la mettre en évidence, il est nécessaire de faire subir au sol considéré un traitement particulier destiné à le stériliser pour empêcher : 1° l'assimilation du substrat ou des produits de sa dégradation par des micro-organismes vivants ; 2° la synthèse microbienne de nouvelles enzymes. Bien entendu, ce traitement ne doit pas inactiver l'enzyme que l'on étudie.

I. — PRINCIPE DES MÉTHODES D'ÉTUDE DES ENZYMES DU SOL

Il est, en fait, très difficile de mettre au point un traitement satisfaisant aux conditions énoncées ci-dessus. Deux groupes de méthodes ont été proposées :

1° Méthodes fondées sur l'emploi d'un antiseptique

Le plus utilisé est le toluène, bien que son efficacité en tant qu'antiseptique ait été parfois contestée. On admet, en général, actuellement que, si le toluène n'exerce pas toujours une action bactéricide, il est au moins bactériostatique, à condition d'être appliqué à une dose suffisamment élevée. Le toluène est sans action sur de nombreuses enzymes ; mais il inhibe les oxydoréductases et ne peut donc être utilisé pour l'étude des enzymes de ce groupe. Parmi les autres antiseptiques proposés, on citera le chloroforme, qui donne sensiblement les mêmes résultats que le toluène et qui présente l'avantage de ne pas gêner les dosages dans l'ultraviolet (DURAND, 1965).

L'oxyde d'éthylène, agent stérilisant efficace mais altérant la structure des protéines, est inutilisable pour la recherche des enzymes telluriques. Les antibiotiques (tel le chloramphénicol, qui a été proposé) présentent peu d'intérêt, car ils sont très sensibles à la biodégradation (STEVENSON, 1964 ; KRASILNIKOV, 1965).

Les tampons, qui sont toujours ajoutés aux sols pour l'étude des complexes enzymatiques, peuvent en même temps jouer un rôle bactériostatique ; ainsi, pour évaluer l'activité de l'asparaginase dans le sol, MOURARET (1965) utilise un tampon à l'acide borique, qui empêche la prolifération des micro-organismes telluriques pendant l'incubation du sol en présence d'asparagine.

2° Méthodes fondées sur la stérilisation par irradiation

La stérilisation du sol par les radiations ionisantes présente trois avantages majeurs : 1° elle altère peu les propriétés physiques et chimiques des sols ; 2° elle ne provoque pas une autolyse importante des cellules microbiennes si le sol est traité à l'état sec ; 3° aux doses minimales létales pour les micro-organismes, elle n'inactive pas des enzymes telles que l'uréase (MCLAREN et coll., 1957) ou la phosphatase (SKUJINS et coll., 1962). Cependant, à ces doses, les radiations ionisantes détruisent parfois certaines enzymes : c'est le cas de l'activité protéasique recherchée sur substrat benzoylarginineamide (MCLAREN et coll., 1957).

TABLEAU XIII. — PRINCIPALES ENZYMES ÉTUDIÉES DANS LE SOL

ENZYMES	TYPE DE RÉACTION CATALYSÉE
I. HYDROLASES	Scission du substrat avec fixation des éléments de l'eau sur les produits de la réaction $\begin{array}{c} A-B \quad A+B \\ \rightarrow \\ HO-H \quad HO-H \end{array}$ Réaction type : rupture entre C et O d'une liaison osidique $\begin{array}{c} \diagup \quad \diagdown \\ -O-C-O-R \xrightarrow{\text{osidase}} -O-C-O-R \\ \diagdown \quad \diagup \quad \diagup \quad \diagdown \\ HO \uparrow H \quad OH \quad H \end{array}$ saccharose → glucose + fructose n saccharose → (fructose)_n + n glucose amidon → dextrine + maltose cellulose → cellobextrines + oligosaccharides inuline → fructose + oligosaccharides pectine → acide galacturonique + galactose glycérophosphate → glycérol + phosphate phénylphosphate → phénol + phosphate Rupture de la liaison amide $\begin{array}{c} O \\ \\ -C-N- \xrightarrow{\text{amidase}} -C-N- \\ \uparrow \quad \uparrow \quad \uparrow \quad \uparrow \\ HO \uparrow H \quad HO \quad H \end{array}$ urée + H₂O → CO₂ + ammoniac asparagine + H₂O → acide aspartique + ammoniac Hydrolyse des liaisons peptides des protéines avec libération des protéines plus simples ou de peptides
1. Osidases et enzymes apparentées — saccharase (= invertase) — lévane-sucrase — amyrase — cellulase — inulase — pectinase — phosphatases (phosphomonooestérases, phytases et phosphodiestérases) 2. Amidases — uréase — asparaginase 3. Protéases	Transfert d'un groupe ou d'un radical d'une substance à une autre (autre que le transfert opéré par les hydrolases et oxydo-réductases) aspartate + pyruvate ⇌ alanine + oxaloacétate leucine + pyruvate ⇌ alanine + α-céto-isovalérate glutamate + pyruvate ⇌ alanine + α-cétoglutarate
II. TRANSFÉRASES	— aspartate-alanine transaminase — leucine-alanine transaminase — glutamate-alanine transaminase

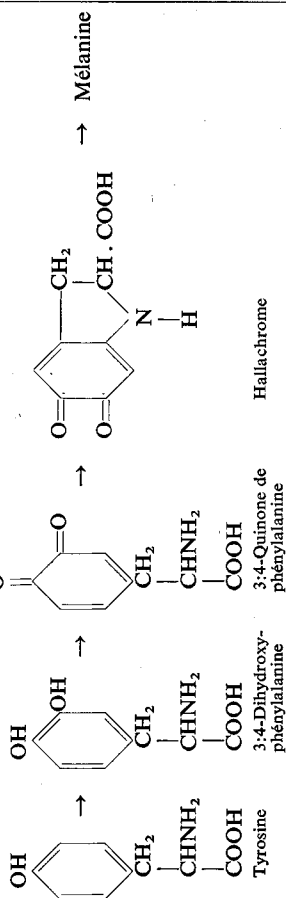
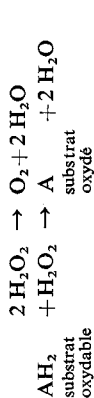
VIII. OXYDO-RÉDUCTASES

Oxydases et peroxydases

- Catalase
— Peroxydase

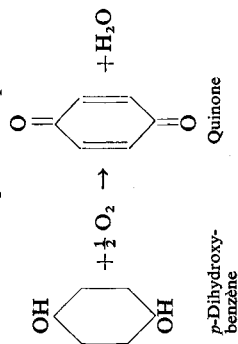
— Tyrosinase

Oxydo-réduction, transfert d'hydrogène ou d'électrons
Réduction de l'oxygène gazeux ou d'un peroxyde



Laccase

di- ou polyphénols en ortho et para → quinones correspondantes



Transhydrogénases ou déshydrogénases

Transfert d'hydrogène ou d'électrons d'un substrat donneur à un substrat accepteur, ce dernier étant l'oxygène ou un autre accepteur naturel ou artificiel

IV. CLASTASES

Décarboxylases

- uricase
- aspartique-décarboxylase

Rupture ou formation d'une liaison C-C

Libération du CO_2 au niveau du groupe carboxyle

acide urique → composés divers dont l'allantoïne + CO₂
acide L-aspartique → β-alanine + CO₂

II. — PRINCIPALES ENZYMES ÉTUDIÉES DANS LE SOL

Il est probable que le sol renferme la plupart des enzymes synthétisées par les végétaux, la microflore ou la microfaune ; mais, jusqu'à présent, certaines d'entre elles seulement ont été mises en évidence (tableau XIII). Nous présenterons ici quelques-unes des principales enzymes — il vaudrait d'ailleurs mieux parler de complexes enzymatiques — dont l'étude a servi de base à des recherches de nature écologique dans le sol : saccharase, amylase, phosphomonoestérase, uréase, asparaginase, catalase.

1° Saccharase et amylase

Parmi les nombreuses méthodes de dosage des osidases (carbohydrases) proposées et mises au point par HOFMANN et ses collaborateurs (HOFMANN, 1963), les plus employées sont celles qui concernent la saccharase et l'amylase. Le principe de la méthode est le suivant : après avoir stérilisé l'échantillon de sol à étudier avec du toluène, on l'enrichit avec le substrat considéré (saccharose, amidon) en présence d'un tampon convenable et, après une incubation à 37 °C de 24 heures ou plus, on dose les sucres réducteurs résultant de l'hydrolyse enzymatique du substrat.

Signalons qu'une diminution de la durée d'incubation à 3 heures vient d'être proposée par HOFFMANN et PALLAUF (1965) ; cette modification présente vraisemblablement, sur la méthode originale, l'avantage indiqué ci-dessous pour l'uréase.

2° Phosphomonoestérase

Le dosage des phosphomonoestérases est effectué dans les conditions suivantes : après adjonction de toluène, on ajoute le substrat (glycérophosphate ou phénylphosphate) en présence d'un tampon (basique ou plus ou moins acide suivant les auteurs) et, après incubation de 2 à 3 heures, on dose soit l'acide phosphorique libéré (KROLL et KRAMER, 1955), soit le phénol (KEILLING et coll., 1960 ; HOFMANN, 1963 ; HALSTEAD, 1964).

3° Uréase et asparaginase

Parmi les nombreuses méthodes de dosage de l'uréase, nous indiquerons celle que préconisent HOFFMANN et TEICHER (1961), car elle présente, sur la méthode originale de HOFMANN et SCHMIDT (1953), l'avantage de comporter une incubation courte (3 h), ne permettant pas un développement microbien sensible, que l'on pourrait craindre malgré la présence de toluène. Après adjonction de toluène et d'un tampon de pH 6,7, le sol est enrichi en urée puis mis à incuber pendant 3 heures ; on filtre et on dose l'ammoniac libéré par colorimétrie. La stérilisation est parfois obtenue par irradiation au

rayonnement gamma. Le principe du dosage de l'asparaginase est identique ; seuls diffèrent la nature du substrat, le pH du tampon et la température d'incubation (DROBNIK, 1956 ; MOURARET, 1959).

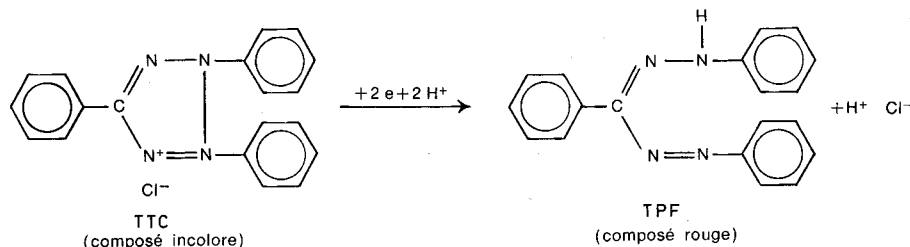
4º Catalase

La méthode la plus simple de dosage des catalases consiste à évaluer directement par eudiométrie le dégagement d'oxygène d'un échantillon enrichi en eau oxygénée (KRUGLOV et PAROMENSKAYA, 1966) ; on peut aussi doser l'eau oxygénée non décomposée après un certain temps de contact avec le sol en présence d'un tampon convenable (DURAND, 1965). Les résultats de ces méthodes doivent être interprétés avec la plus grande prudence car, dans le sol, la décomposition de l'eau oxygénée n'est pas seulement le fait de catalases, mais aussi de catalyseurs chimiques (SMIRNOV et coll., 1962 ; JOHNSON et TEMPLE, 1964).

Remarques. — a) *Expression des résultats concernant les dosages enzymatiques.* — Conformément aux recommandations de la Commission internationale des enzymes (1961), les résultats des dosages enzymatiques devraient être exprimés en unités enzymatiques, l'unité enzymatique étant la quantité d'enzyme nécessaire à la catalyse de la transformation d'une μM de substrat par minute. En fait, beaucoup d'auteurs expriment leurs résultats en fonction des composés formés et non en fonction des substrats dégradés : c'est ainsi que la teneur du sol en saccharase ou amylase est souvent évaluée en fonction de la quantité de sucres réducteurs formés (cf. tableau XVII).

Pour faciliter les comparaisons entre les différents types pédologiques, il est souvent commode de rapporter les résultats non pas au gramme de sol (valeur brute), mais au gramme de carbone du sol (valeur en fonction du carbone) (cf. tableau XVII).

b) Activité déshydrogénasique des sols. — On sait que les déshydrogénases (ou transhydrogénases) sont des enzymes qui catalysent le transfert d'hydrogène d'un substrat oxydable (par exemple : composants des résidus végétaux) soit sur l'oxygène, soit sur un autre accepteur d'hydrogène existant spontanément ou introduit artificiellement. Si, dans un sol, on élimine complètement l'accepteur d'hydrogène naturel que constitue l'oxygène et si on le remplace par un accepteur d'hydrogène artificiel tel que le chlorure de 2,3,5-triphényltétrazolium (TTC), l'hydrogène est transféré par les déshydrogénases sur ce composé incolore qui est alors réduit à l'état de triphénylformazan (TPF), composé coloré, suivant la réaction :



L'intensité de cette réduction mesure l'activité *déshydrogénasique* du sol. En pratique, pour évaluer cette activité, on procède de la façon suivante : on fait incuber pendant 24 heures en *anaérobiose* le sol enrichi en TTC sans ajouter d'antiseptique, tel que le toluène, qui inhiberait les déshydrogénases. Après cette incubation, on extrait le TPF formé par l'acétone ou le méthanol et on le dose par colorimétrie. L'activité déshydrogénasique du sol est généralement exprimée en μl d'hydrogène transféré en 24 heures par g de sol ou de carbone de la matière organique du sol : on l'exprime aussi parfois en μg de TPF formé (THALMANN, 1966).

La méthode d'évaluation de l'activité déshydrogénasique, dont nous venons de présenter le principe, n'est pas une méthode enzymatique *sensu stricto*, puisque l'on n'opère pas en l'absence de toute activité microbienne (on n'apporte pas d'antiseptique) ; il s'agit, en fait, d'une méthode de mesure globale de l'activité respiratoire (CASIDA, 1968). C'est ce qui explique que l'on observe une corrélation positive entre l'activité déshydrogénasique des sols et leur activité respiratoire mesurée par le dégagement de gaz carbonique ou l'absorption d'oxygène (fig. 17).

L'activité déshydrogénasique est mesurée, dans la plupart des cas, sans adjonction préalable au sol d'un substrat complémentaire (glucose, par exemple) ; mais on peut aussi en incorporer un : on évalue alors l'activité déshydrogénasique potentielle (Kiss et BOARU, 1965).

La mesure de l'activité déshydrogénasique préconisée à l'origine par LENHARD (1956) a connu depuis un grand succès et, malgré la difficulté d'application à certains types pédologiques particuliers, a été employée par de nombreux auteurs (I. L. STEVENSON, 1959 ; SCHAEFER, 1963a ; CASIDA et coll., 1964 ; KOZLOV, 1964 ; PAULI, 1967).

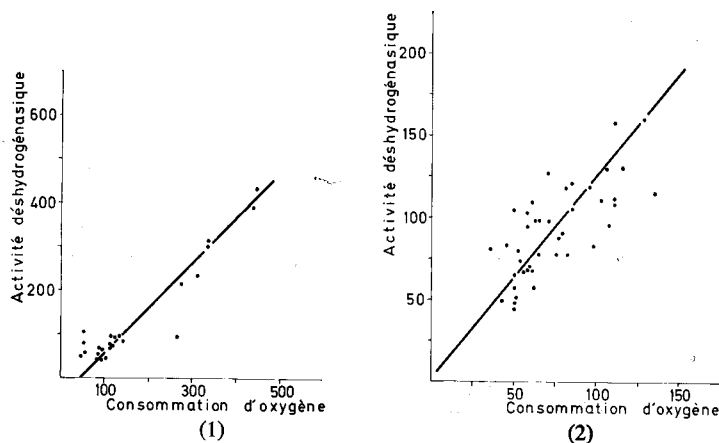


FIG. 17. — Relation entre l'activité déshydrogénasique et la consommation d'oxygène (1) dans des sols frais non enrichis ($r = 0,837$) et (2) dans un sol enrichi en résidus végétaux ($r = 0,511$). L'activité déshydrogénasique est exprimée en μl H transféré en 24 h par 20 g de sol, la consommation d'oxygène en μl O_2 utilisé en 6 h par 4 g de sol (I. L. STEVENSON, 1959).

B. — ORIGINE DES ENZYMES DU SOL

Les enzymes du sol proviennent non seulement de la microflore, mais aussi de la végétation et de la microfaune.

I. — MICROFLORE

La proportion relative des enzymes d'origine microbienne et des enzymes d'origine végétale varie d'un type de sol à l'autre. Bien qu'il soit difficile de l'apprécier, on peut admettre que, dans beaucoup de sols, une fraction des enzymes est synthétisée par les micro-organismes.

a) Un premier fait vient à l'appui de cette thèse : l'accroissement de la population microbienne résultant de l'incorporation au sol d'un substrat donné entraîne une augmentation de l'activité enzymatique liée à ce substrat. Ainsi, l'addition au sol de saccharose, en stimulant la microflore dégradant ce sucre, enrichit le sol en saccharase. Le tableau XIV emprunté à KISS (1957a) montre bien que seul le saccharose induit une accumulation de saccharase dans le sol, alors que les autres substrats (glucose et peptone) sont pratiquement sans effet.

Il arrive cependant que l'incorporation au sol d'un substrat donné induise l'enrichissement du sol en une enzyme ne dégradant pas ce substrat. Ainsi, l'adjonction de glucose à un sol tourbeux augmente sa teneur en uréase (VASILENKO, 1962) ; de même, l'adjonction de cellulose à un sol colluvial ferrallitique augmente sa teneur en asparaginase (MOURARET, 1965). Cette anomalie apparente peut s'expliquer :

TABLEAU XIV. — INFLUENCE DE L'INCORPORATION DE DIVERS SUBSTRATS
SUR LA TENEUR EN SACCHARASE DE DEUX SOLS
(d'après KISS, 1957a)

SUBSTRAT	SOL 1	SOL 2
	<i>Teneur relative en %</i>	<i>Teneur relative en %</i>
Témoin	100	100
Saccharose 0,5 %	152,3	119
Saccharose 1 %	164,6	162,8
Glucose 0,5 %	111,5	94,2
Glucose 1 %	118,4	104,7
Peptone 0,5 %	105,3	100
Peptone 1 %	105,3	100

— par la stimulation de micro-organismes qui s'attaquent non seulement au substrat considéré, mais aussi à d'autres substrats préexistant dans le sol ;

— par la stimulation de micro-organismes produisant non seulement l'enzyme recherchée, mais renfermant aussi des enzymes constitutives, dont la teneur s'élève *ipso facto* ;

— par la dégradation du substrat apporté à l'état de produits intermédiaires qui constituent alors de nouveaux substrats — différents du substrat originel — sur lequel prolifèrent des vagues microbiennes successives (cf. p. 737).

Quel que soit le résultat de l'enrichissement, que l'accroissement du stock d'enzymes dans le sol soit celui que l'on attendait ou non, il est certain que, dans les expériences considérées, cet accroissement résulte bien de l'activité microbienne.

TABLEAU XV. — TENEUR EN SACCHARASE ET DENSITÉ BACTÉRIENNE DANS DEUX PROFILS (HOFMANN, 1962)

PROFILS	PROFONDEUR EN CM	DENSITÉ EN 10 ⁶	TENEUR EN SACCHARASE (a)
1	0-10	7,3	6,6
	10-20	7,1	6,2
	20-40	4,1	4,2
2	0-10	7,6	6,4
	10-20	6,2	6,2
	20-40	3,2	3,8

(a) Exprimée en ml de thiosulfate de sodium employé pour titrer les monosaccharides libérés par l'hydrolyse enzymatique dans 2 g de sol au cours d'une incubation de 24 h à 37 °C.

b) L'origine, en partie microbienne, des enzymes telluriques peut encore être confirmée par l'expérience suivante : si, en même temps que le substrat, on ajoute un antiseptique efficace, l'activité enzymatique reste inchangée ; il se peut même qu'elle diminue si l'antiseptique appliqué inhibe l'enzyme.

c) Un dernier argument avancé par HOFMANN (1962) en faveur du rôle des micro-organismes en tant qu'agents de synthèse des enzymes dans le sol, réside dans le fait que, dans beaucoup de profils *in situ*, la décroissance avec la profondeur de l'activité enzymatique va de pair avec la décroissance des densités microbiennes (tableau XV). Toutefois, cet argument ne peut être invoqué dans certains types de sols caractérisés par une distribution verticale de type concave (cf. p. 490), c'est-à-dire caractérisés par une augmentation de la densité microbienne en profondeur. C'est le cas de lithosols à mor où les taux de saccharase et d'amylase varient en sens inverse de la densité microbienne ; dans ces sols, saccharase et amylase seraient pour une bonne part d'origine végétale et non microbienne (GILOT et DOMMERGUES, 1967).

II. — VÉGÉTATION

La contribution de la végétation à l'approvisionnement du sol en enzymes a été démontrée sans équivoque par de nombreux auteurs. Cette contribution est particulièrement importante au niveau de la spermosphère (cf. p. 541) et surtout au niveau de la rhizosphère, où, sauf exceptions assez rares (DURAND, 1965 ; VOETS et DEDEKEN, 1966), l'activité enzymatique est plus intense que dans le sol non rhizosphérique. A titre d'exemple, on citera les résultats d'une étude de KOZLOV (1964) sur la rhizosphère de quelques plantes se développant dans un sol châtain de la région de Zabaïkal, dans l'est de la Sibérie (tableau XVI).

TABLEAU XVI. — ACTIVITÉ ENZYMATIQUE DANS LE SOL NON RHIZOSPHERIQUE ET DANS LA RHIZOSPHERE DE DIFFÉRENTES PLANTES (CAS D'UN SOL CHÂTAÎN D'URSS) (KOZLOV, 1964)

PLANTES	PEROXYDASE (^a)		POLYPHÉNOL- OXYDASE (^a)		ACTIVITÉ DÉSHYDROGÉ- NASIQUE (^b)		DENSITÉ DE LA MICROFLORE TOTALE EN 10 ³ /g SOL		HUMUS %	
	Sol	Rhiz.	Sol	Rhiz.	Sol	Rhiz.	Sol	Rhiz.	Sol	Rhiz.
<i>Festuca</i> sp.	2	6	3	7	360	525	57,4	87,4	3,32	4,15
<i>Aneurolepidium</i> sp.	1	3	4	8	270	472	161,5	506,4	1,89	3,3
<i>Tanacetum</i> sp.	3	4	1	2	267	390	206,5	374,6	5,42	5,55
<i>Stipa</i> sp.	2	3	3	3	210	360	106,1	139,6	3,2	3,54

(^a) En ml solution d'iode 0,01 N.

(^b) En μ l H/24 h/g de sol.

L'accroissement d'activité enzymatique du sol sous l'effet de la végétation résulte :

1° de l'apport au sol d'enzymes contenues dans les résidus de tissus végétaux et dans les exsudats racinaires (enzymes d'origine végétale *sensu stricto*) ;

2° de la stimulation des synthèses microbiennes d'enzymes sous l'effet de l'enrichissement du sol en substrats énergétiques tels que litières ou exsudats racinaires (enzymes d'origine microbienne).

1° Apport d'enzymes au sol avec les tissus végétaux et avec les exsudats racinaires

L'apport d'enzymes par les cellules végétales des tissus aériens retournant au sol (litières, résidus enfouis) ou par les cellules provenant de l'exfoliation des racines, est admis par la plupart des auteurs.

Par contre, le processus d'exsudation des enzymes par les racines est encore l'objet de discussions. Si de nombreux chercheurs affirment avoir mis en évidence une telle exsudation (KRASILNIKOV, 1958), d'autres ne sont pas convaincus (DURAND, 1965). En fait, il est très difficile de vérifier expérimentalement l'origine des enzymes dans la rhizosphère. « En effet, lorsqu'on ajoute un substrat à des racines de plantules en cultures hydroponiques et qu'on obtient des produits de dégradation, il se peut que ce substrat soit d'abord absorbé par les racines, puis dégradé, et les substances de cette hydrolyse finalement sécrétées dans le milieu. Ainsi, les produits d'hydrolyse ne seraient pas obtenus directement par l'action de l'enzyme libre sécrétée par les racines, mais uniquement par l'enzyme présente dans les racines et après absorption du substrat par celles-ci » (VOETS et DEDEKEN, 1966).

Parmi les principales enzymes qui proviennent au moins *pro parte* de tissus végétaux incorporés au sol (litières, résidus végétaux divers) ou d'exsudats racinaires, on citera : d'une part la *saccharase* (ESTERMANN et McLAREN, 1961 ; KISS, 1961 ; GILOT et DOMMERGUES, 1967), d'autre part la *phosphatase* (ESTERMANN et McLAREN, 1961). En ce qui concerne l'urée, les avis sont partagés ; certains considèrent qu'elle est essentiellement d'origine végétale (KOEPP, 1954) et d'autres estiment que c'est un produit de synthèse microbienne (ESTERMANN et McLAREN, 1961).

L'existence de ces apports au sol d'enzymes d'origine végétale explique certaines particularités des variations saisonnières et des variations en fonction de la profondeur des teneurs en enzymes dans les sols.

On signalera enfin que les Lichens pourraient parfois contribuer dans des proportions non négligeables à enrichir les sols en enzymes (MOUREAUX, 1959).

2° Apport d'enzymes au sol résultant de la stimulation des synthèses microbiennes

La stimulation de la production microbienne d'enzymes se manifeste : 1° au contact des résidus végétaux (litières) qui servent de substrat énergétique à la microflore ; 2° au niveau de la rhizosphère.

III. — MÉSOFAUNE ET MICROFAUNE

La mésofaune et la microfaune du sol modifient souvent, mais pas toujours, sa teneur en enzymes. Ainsi, KISS (1957b) note un doublement de la teneur en saccharase dans les galeries formées par *Lumbricus terrestris* ; dans les fourmilières, le sol de surface est appauvri, alors qu'en profondeur il est enrichi en enzymes. On ne sait si ces modifications résultent d'une action directe de la faune ou d'une action indirecte s'exerçant par l'intermédiaire de la microflore, qui est stimulée fréquemment par la mésofaune ou la microfaune.

C. — ÉTAT DES ENZYMES DANS LE SOL

Dans le sol, les enzymes se trouvent sous trois états ; elles peuvent être : 1° libres, 2° adsorbées sur les colloïdes, 3° renfermées dans des cellules mortes ou des fragments cellulaires.

I. — ENZYMES LIBRES

Ces enzymes sont soit des enzymes extracellulaires, soit des enzymes intracellulaires qui ont été libérées dans le sol à la suite de l'autolyse de cellules microbiennes ou végétales. Il semble que, sous cette forme, les enzymes ne persisteraient pas longtemps car elles subiraient une biodégradation rapide.

II. — ENZYMES ADSORBÉES PAR LES COLLOÏDES DU SOL

1° Adsorption par les colloïdes minéraux

Ce problème sera traité à propos de l'étude de l'influence des minéraux argileux sur l'activité biologique du sol. Nous indiquerons seulement ici que l'adsorption des enzymes entraîne, en général, leur inactivation partielle, mais peut aussi protéger certaines d'entre elles contre la biodégradation (cf. p. 464) ou l'action de traitements aboutissant normalement à leur dénaturation, comme le passage à l'autoclave (CHALVIGNAC, 1968).

2° Adsorption par les colloïdes organiques

Alors que l'adsorption par les colloïdes minéraux a fait l'objet d'un nombre considérable de travaux, l'adsorption des enzymes par les colloïdes organiques n'a pratiquement pas été étudiée. On signalera simplement un travail déjà ancien de CONRAD (1940), d'où il résulte que l'uréase peut former un complexe avec la lignine. Il est vraisemblable que les phénomènes d'adsorption des enzymes sur la matière organique jouent un rôle majeur dans certains types de sol ; mais, dans l'état actuel de nos connaissances, il est impossible d'affirmer si cette adsorption entraîne ou non une inhibition de l'activité des enzymes (DURAND, 1965) et si elle exerce ou non un effet protecteur vis-à-vis de la biodégradation.

III. — ENZYMES DES CELLULES MORTES OU DES FRAGMENTS CELLULAIRES

Si de nombreux chercheurs, dont I. L. STEVENSON (1964), considèrent que les enzymes du sol sont essentiellement à l'état adsorbé sur les argiles, d'autres estiment que celles-ci pourraient aussi se trouver en quantité relativement importante dans des cellules mortes ou des fragments cellulaires d'origine microbienne ou végétale (débris d'organes aériens ou cellules d'exfoliation des racines). A l'appui de cette thèse, nous citerons les résultats des recherches effectuées par HOFFMANN (1959) et MOURARET (1965). Le premier auteur a montré que, à l'exception de l'uréase, les autres enzymes étudiées étaient localisées non pas dans la fraction argileuse du sol mais dans la fraction limoneuse, la plus riche en micro-organismes dans le cas considéré. De son côté, MOURARET a comparé le comportement dans le sol (stabilité au séchage, élution) de l'asparaginase de Levure sous deux formes : à l'état libre (préparation acellulaire) et à l'état de cellules ; il a constaté que l'asparaginase existant spontanément dans le sol se comportait comme l'asparaginase apportée avec les cellules de Levure. Il en a déduit que, dans les sols étudiés, sols ferrallitiques pour la plupart, l'asparaginase se trouve essentiellement à l'intérieur de structures cellulaires.

Se fondant sur des recherches portant sur la saccharase de Levure, KISS et BALINT (1959) sont arrivés à la conclusion que les enzymes qui se trouvent encore à l'intérieur de ces structures cellulaires se conservent beaucoup mieux dans le sol que les enzymes libres, qui disparaissent très rapidement.

Il est vraisemblable que, dans le sol, les enzymes coexistent essentiellement sous les deux états : à l'état adsorbé et à l'intérieur de structures cellulaires ; certaines enzymes dont l'uréase appartiendraient à la première catégorie, alors que d'autres, comme l'asparaginase ou la saccharase, appartiendraient plutôt à la deuxième.

D. — FACTEURS ÉCOLOGIQUES RÉGISSANT LA RÉPARTITION ET L'ACTIVITÉ DES ENZYMES DANS LE SOL

On connaît encore très mal l'effet de chacune des composantes de l'environnement sur la synthèse et la biodégradation des enzymes dans les sols. Les rares données dont on dispose concernent essentiellement les facteurs pH, humidité et texture, ce dernier facteur faisant l'objet d'une discussion détaillée, page 463.

En ce qui concerne les facteurs complexes : végétation, type pédologique, variations saisonnières, façons culturales, les publications sont particulièrement nombreuses ; mais il est encore très difficile d'en tirer des conclusions générales d'une part en raison de la diversité des enzymes étudiées par chacun des chercheurs et de l'hétérogénéité du mode d'expression des résultats, d'autre part en raison de la grande disparité des problèmes abordés.

I. — pH

Le pH du sol influe sur l'activité des différentes enzymes à la fois *directement*, puisque chaque enzyme présente un optimum qui lui est propre, et à la fois *indirectement* en modifiant l'équilibre entre les processus de synthèse et de biodégradation de ces catalyseurs biologiques ou de leurs substrats. On reviendra ultérieurement (p. 389) sur ce problème dont la complexité est due à l'existence d'interactions avec d'autres facteurs tels que la texture.

II. — HUMIDITÉ

Nous évoquerons ici seulement le cas particulier de la dessiccation, qui est le mieux connu. Dans la plupart des sols et pour de nombreuses enzymes, la dessiccation à l'air diminue l'activité enzymatique (voir par exemple DOMMERGUES, 1962 ; ROSS, 1965). Il est donc nécessaire de mesurer l'activité enzymatique sur des échantillons immédiatement après le prélèvement.

III. — VÉGÉTATION

On a signalé par ailleurs (p. 83) que la végétation peut contribuer directement ou indirectement à modifier la teneur du sol en enzymes. C'est en particulier le cas des espèces forestières qui, par effet-litière, contrôlent dans une large mesure la teneur en enzymes des horizons de surface des sols où elles poussent. Ainsi, une comparaison effectuée dans quatre stations de l'est de la France entre, d'une part, des sols sous des peuplements mixtes de feuillus de composition sensiblement constante (*Fagus silvatica*, *Carpinus betulus*, *Quercus petraea*) et, d'autre part, des sols de parcelles contiguës sous des peuplements purs de *Picea abies*, *Abies alba*, *Pinus sylvestris* montre que ces trois espèces de Conifères réduisent considérablement la teneur du sol en enzymes hydrolysant les hydrates de carbone (saccharase et amylase) et, parallèlement ralentissent considérablement l'activité déshydrogénasique. Les résultats des analyses correspondantes — qui ont été exprimés en fonction du carbone du sol (tableau XVII) — révèlent en outre que l'intensité de l'effet-litière varie suivant les types pédologiques considérés, certains étant très sensibles à cet effet, d'autres beaucoup moins (cf. p. 535).

Tableau XVII. — INFLUENCE DE LA COMPOSITION DE LA VÉGÉTATION FORESTIÈRE SUR LA TENUE EN SACCHARASE ET AMYLASE ET SUR L'ACTIVITÉ DÉSHYDROGÉNASIQUE DES HORIZONS DE SURFACE (0-5 cm) DE QUATRE TYPES DE SOLS DE L'EST DE LA FRANCE (BAUZON et coll., 1969)

	SOLS TRÈS SENSIBLES À L'EFFET-LITIÈRE						SOL PEU SENSIBLE À L'EFFET-LITIÈRE	
	Sol brun acide (Haut-Jacques)		Sol lessivé à pseudogley (Mondon)		Sol lessivé podzolique (Bezanges)		Sol brun lessivé (Sivrite)	
	Mélange de Feuillus	<i>Abies alba</i>	Mélange de Feuillus	<i>Pinus sylvestris</i>	Mélange de Feuillus	<i>Picea abies</i>	Mélange de Feuillus	<i>Picea abies</i>
Saccharase	4 047	1 347	6 480	1 813	2 930	1 789	6 378	4 935
Amylase	404	263	560	305	639	445	790	647
Activité déshydrogénasique	1 033	144	1 013	146	1 323	280	1 661	1 264
Carbone %	6,5	26,3	6,1	19,5	5,3	9,4	2,4	2,7
pH	3,8	3,2	3,9	3,3	5,0	4,4	5,3	4,5

Les teneurs en amylase et en saccharase sont exprimées en μM de sucres réducteurs formés par minute et par gramme de carbone du sol.

L'activité déshydrogénasique est exprimée en μH transféré en 24 h et par gramme de carbone du sol.

IV. — TYPES PÉDOLOGIQUES

Il n'est pas possible de passer en revue ici les très nombreuses publications, en particulier celles de l'école soviétique, qui décrivent l'équipement enzymatique de types pédologiques très variés. Ces études ont souvent été faites avec le désir de caractériser la fertilité des sols. On verra plus loin (p. 91) que cet objectif est beaucoup trop ambitieux. Par contre, il est raisonnable de considérer que l'étude enzymatique des sols peut contribuer efficacement à leur caractérisation. On a, en particulier, appliqué avec succès les critères enzymatiques à la classification des humus forestiers (BAUZON et coll., 1968).

Le problème de la distribution verticale des enzymes dans les profils sera examiné page 491.

V. — VARIATIONS SAISONNIÈRES

Les variations saisonnières du taux des différentes enzymes dans le sol dépendent à la fois de la microflore et de la végétation. L'amplitude des variations enzymatiques est en général nettement moins grande que l'amplitude correspondante des variations de densité microbienne (HOFMANN, 1962). On trouvera dans la revue de DURAND (1965) de bons exemples d'étude de variations saisonnières de l'activité enzymatique en région tempérée ; en ce qui concerne les sols tropicaux, on se reportera au travail de MOUREAUX (1959).

VI. — FUMURES ET FAÇONS CULTURALES

Les fumures organiques et minérales ne sont pas sans modifier l'équipement enzymatique des sols cultivés. Il semble que, dans certains cas particuliers, les dosages enzymatiques puissent être utilisés pour mettre au point ou contrôler l'efficacité de diverses fumures (voir par exemple DURAND, 1965).

E. — RÔLE DES ENZYMES DANS LE SOL ET SIGNIFICATION DES MESURES D'ACTIVITÉ ENZYMATIQUE

La teneur des sols en enzymes serait de l'ordre de quelques parties par million (BRIGGS et SPEDDING, 1963), ce qui représente un potentiel biochimique important, si l'on songe qu'il s'agit de substances très actives qui ne sont nullement diluées dans

toute la masse du sol mais concentrées dans des sites (microhabitats) bien délimités : particules de matière organique, d'argile, structures cellulaires plus ou moins dégradées.

On peut penser que ces enzymes interviennent, à côté des micro-organismes vivants, aussi bien dans les processus de dégradation que dans des processus de synthèse. Une expérience récente de DURAND (1966) met bien en évidence la possibilité de coexistence de processus de dégradation par les enzymes du sol et de processus de dégradation de nature microbienne. Cet auteur compare la disparition d'acide urique dans des lots d'échantillons de sol ayant subi les trois traitements suivants :

1° stérilisation par la chaleur, opération amenant la dénaturation de l'uricase et la mort des micro-organismes ;

2° stérilisation par le toluène, opération amenant l'inhibition des micro-organismes ;

3° témoin non stérile.

Dans le premier lot, une fraction de l'acide urique disparaît par adsorption physico-chimique sur les colloïdes du sol (fig. 18, courbe C). Dans le deuxième lot, la quantité d'acide urique disparue est plus élevée : elle correspond non seulement à l'adsorption physico-chimique, mais aussi à la dégradation par les enzymes du sol (fig. 18, courbe B). Dans le troisième lot, la quantité d'acide urique disparue est encore plus élevée ; elle

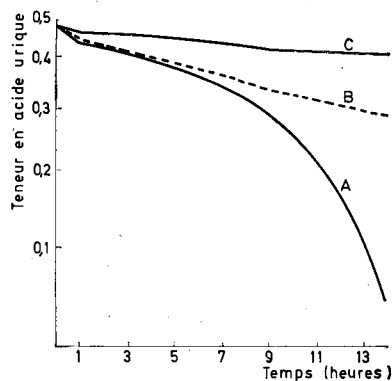


FIG. 18. — Disparition de l'acide urique dans un sol (DURAND, 1966). Courbe A : phénomène global. Courbe B : dégradation par les enzymes du sol et disparition de nature physico-chimique. Courbe C : disparition de nature physico-chimique. La teneur en acide urique extractible du sol est exprimée en densité optique à 280 m μ déterminée au spectrophotomètre.

correspond, en effet, à l'ensemble des processus suivants : fixation physico-chimique, dégradation par les enzymes du sol, dégradation par voie microbienne (fig. 18, courbe A).

En ce qui concerne les processus de synthèse, KISS (1961) et KISS et ses collaborateurs (1965) ont montré que des polysaccharides peuvent se former grâce aux enzymes du sol (lévane-sucrase) ; les enzymes, telles que les tyrosinases ou les laccases (tableau XIII), joueraient aussi un rôle dans la synthèse des substances humiques en catalysant l'oxydation de certains phénols qui, une fois oxydés, se polymériseraient pour former le noyau des substances humiques (TROJANOWSKI et MATWIJOW, 1964).

La commodité des méthodes enzymatiques, leur bonne reproductibilité font qu'elles apparaissent souvent d'un emploi plus aisé que certaines méthodes classiques en microbiologie du sol (méthodes de perfusion, méthodes respirométriques, numérations), d'où leur succès. Mais l'interprétation des résultats en est plus délicate, car nous ne connaissons encore rien de l'équilibre entre les gains et les pertes d'enzymes par biodégradation ; l'accumulation d'une enzyme dans le sol peut aussi bien résulter d'un apport important par la végétation ou d'une synthèse microbienne très active (sol biologiquement très actif) que d'une biodégradation discrète, comme celle qui caractérise les horizons de surface des sols sous Conifères (cf. p. 532).

Quant à la recherche de l'évaluation de la fertilité globale d'un sol fondée uniquement sur des mesures enzymatiques — portant parfois sur une seule enzyme — comme l'ont préconisée certains auteurs, elle est, sauf exception rarissime, vouée à l'échec ; en effet, l'activité enzymatique du sol ne constitue qu'un seul des multiples facteurs qui contribuent à sa fertilité (KOZLOV, 1964).

L'enzymologie du sol est encore une science toute jeune et de grands progrès sont encore nécessaires afin que l'on parvienne à une interprétation valable des résultats d'analyse d'échantillons prélevés *in situ*. Il sera en particulier indispensable d'approfondir nos connaissances sur l'état des enzymes dans le sol et surtout sur l'équilibre entre, d'une part, les processus de synthèse microbienne et les apports végétaux et, d'autre part, les processus de biodégradation de ces catalyseurs biologiques.

CHAPITRE II

LE CYCLE DU CARBONE

A. — GÉNÉRALITÉS

Du point de vue simplement quantitatif, c'est le plus important des cycles biogéochimiques et ses mécanismes — d'ailleurs encore incomplètement connus — sont d'une grande diversité.

On peut lui assigner pour point de départ les réserves de CO_2 atmosphérique, évaluées à environ 700 milliards de tonnes (fig. 19).

PREMIÈRE ÉTAPE : *Organisation du carbone.*

Les organismes autotrophes comprennent certaines Bactéries chimiolithotrophes, utilisant comme source d'énergie, l'oxydation de certaines substances minérales (NH_4^+ , NO_2^- , S, Fe^{++} , H_2 , etc.), mais ils comprennent surtout les photolithotrophes dont les pigments captent l'énergie lumineuse pour réaliser les phénomènes de la photosynthèse.

Grâce à ces sources externes d'énergie, les autotrophes édifient leur propre substance à partir du CO_2 atmosphérique et amènent ainsi le carbone minéral à l'état de substances organiques complexes.

On peut se demander quelles quantités de C sont impliquées dans ces phénomènes d'organisation. C'est une question à laquelle il est difficile de répondre à coup sûr et nous nous contenterons d'indiquer ici les évaluations, très modérées d'ailleurs, de MÜLLER et NIELSEN (1965).

Selon eux, la productivité des seuls végétaux chlorophylliens terrestres correspond chaque année à plus de 20 milliards de tonnes de C et il faudrait ajouter à ce chiffre les quantités encore beaucoup plus considérables fixées dans les lacs et les océans. Sans doute s'agit-il ici d'une *productivité brute* en partie balancée par la respiration des autotrophes, respiration qui ramènerait au stock atmosphérique 40 à 75 % du C fixé.

Il n'en reste pas moins que, chaque année, la production primaire ou *production nette* atteint pour les seules terres émergées, 10 milliards au moins de tonnes de C qui se trouvent bloquées, inutilisables pour les autotrophes.

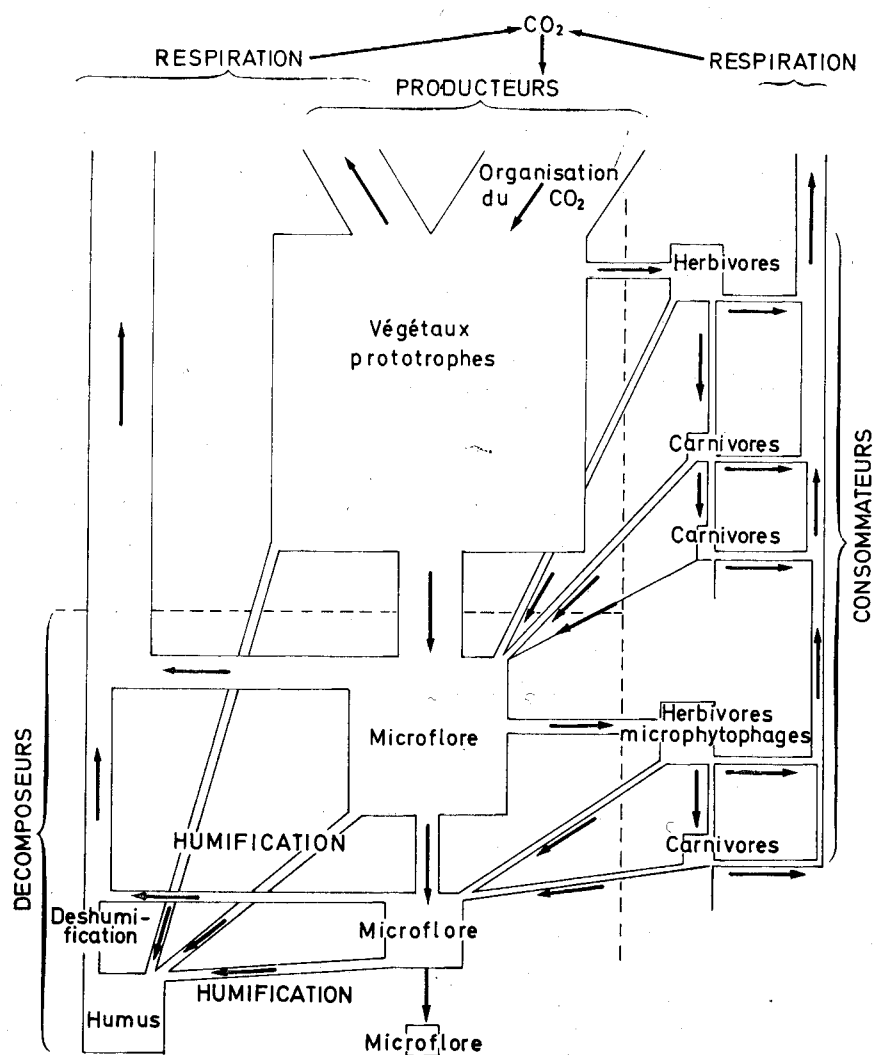


FIG. 19. — Schéma général du cycle du carbone. Le C minéral (CO_2), organisé par les phototrophes, est minéralisé, pour une faible part, grâce à la respiration de vagues successives de consommateurs herbivores puis carnivores et, pour le reste, par la respiration des phototrophes et de la microflore. Une petite quantité stagne dans le « pool » organique de l'humus.

Même si l'on tient compte des bicarbonates dissous dans les eaux de surface et des carbonates facilement mobilisables, les réserves de CO_2 seraient bientôt épuisées et la vie deviendrait impossible si des processus de minéralisation ne venaient pas équilibrer plus ou moins exactement le cycle du carbone.

DEUXIÈME ÉTAPE : *Les consommateurs.*

La masse végétale est utilisée par des consommateurs primaires, les Herbivores — des Mammifères aux Insectes et aux Gastéropodes — puis ces derniers sont eux-mêmes attaqués par des consommateurs secondaires carnivores.

Mais ce qui précède n'intéresse qu'une très petite fraction de la biomasse synthétisée par les végétaux supérieurs : les Herbivores ne consomment guère que le 1/10 de la production primaire et exploitent très mal leurs aliments dont une part importante est rejetée sous forme de déjections.

Dans 1 hectare de prairie dont la production nette varie de 4 à 15-20 tonnes par an, la biomasse des Herbivores dépasse rarement 200 kilos et, dans nos forêts tempérées, elle s'élève au mieux à quelques dizaines de kilos. Quant à celle des Carnivores, elle est évaluée au 1/10 de ces chiffres.

Au total, cette deuxième étape consiste donc en une très faible minéralisation du C, par la respiration et surtout en un remaniement des matières organiques qui se retrouvent à l'état de déjections et de substances animales riches en N.

TROISIÈME ÉTAPE : *Les décomposeurs.*

Etant donné ce qui précède, la deuxième étape se trouve court-circuitée pour la majeure partie de la biomasse végétale qui fait directement retour au sol à l'état de débris : feuilles mortes, branches brisées, tiges annuelles, fruits, etc. auxquels viennent s'ajouter déjections et cadavres animaux qui ont suivi la voie longue.

L'ensemble de cette matière organique inerte est alors progressivement minéralisé par l'intervention de chaînes trophiques au long desquelles se succèdent des micro-organismes décomposeurs hétérotrophes et des consommateurs primaires microphytophages ⁽¹⁾ qui s'en nourrissent.

La composition de ces chaînes est éminemment variable suivant la nature et l'équilibre biochimique des matières organiques et suivant les conditions de l'environnement.

Chacun des stades successifs utilise le stade précédent ou les sous-produits de son activité — résidus non consommés ou déchets néoformés — comme source d'énergie avec rejet de CO_2 et comme aliment plastique avec synthèse de nouvelles matières organiques. Si aucun apport externe n'intervient, les quantités de C organique diminuent donc d'un stade à l'autre et tendraient à s'annuler, mais seulement au bout d'un temps très long.

C'est que l'activité biologique du sol se ralentit au fur et à mesure de l'épuisement des aliments ; c'est aussi que la matière organique contient des fractions inégalement

(1) Il est intéressant de noter que leur biomasse est parfois très supérieure à celle des Herbivores : certains sols favorables contiennent jusqu'à 500 kg/ha de Vers de terre. Il n'en reste pas moins que la faune du sol joue, elle aussi, un rôle minéralisateur effacé (cf. p. 736).

résistantes aux agents biologiques. Certaines substances sont utilisées très vite (protides, sucres, amidon, composés pectiques) et les débris végétaux frais conditionnent une prolifération intense et rapide de micro-organismes que l'on peut qualifier de glucophiles : la production secondaire, la biomasse microbienne est d'abord élevée. On compte les Bactéries par milliards par gramme de matière sèche au cours des premières semaines de décomposition des litières riches.

Plus tard, la destruction des aliments fragiles conduit à un enrichissement relatif en fractions plus ou moins résistantes, cellulose mais surtout lignine, qui sont attaquées par des formes spécialisées accompagnées par les représentants, en nombre réduit, des stades précédents, utilisant les déchets libérés peu à peu.

QUATRIÈME ÉTAPE : *Les réserves.*

Certaines fractions des débris végétaux (tannins, lignine et autres composés aromatiques, notamment), certains produits du métabolisme microbien peuvent, dans des conditions déterminées, subir des transformations qui donnent naissance à des substances plus ou moins polymérisées, résistantes aux actions microbiennes et généralement de teinte sombre.

Ces substances peuvent s'accumuler dans les débris de tissus encore organisés dont elles incrustent et, sans doute, protègent les parois contre les attaques biologiques : c'est le cas dans les humus bruts ; ou bien, issues de produits solubles qui se sont condensés

TABLEAU XVIII. — RÉPARTITION DE LA BIOMASSE DANS QUELQUES ÉCOSYSTÈMES DE L'URSS (d'après KOVDA et JAKUSHEVSKAJA, 1967)

	BIOMASSE VÉGÉTALE			BIOMASSE DE LA FAUNE	
	Végétaux supérieurs en t/ha	Algues	Autres micro- organismes	Totale en t/ha	Inver- tébrés en % du total
		en % de la biomasse végétale			
Toundra	28	0,2	0,7	0,011	95,7
Taïga du Sud (Forêt)	358	0,14	0,06	0,36	99,6
Taïga du Sud (Culture)	14	7	3	1,7	98,5
Tourbières	36	8	2	0,66	99,3
Tourbières mises en valeur	36	3	10	6,4	93,7
Forêt caducifoliée	505	0,3	0,2	0,9	99,7
Même zone, en culture	22	4,5	4,5	5	99,2
Chernozem (Steppe herbeuse)	25,6	3,9	3.1	1,4	99,8
Chernozem, en culture	32	3	4	3	99,3
Déserts d'Asie centrale	5	9,5	9,5	0,22	99,7
Déserts en culture	18	8,4	7	1,8	98,0

au niveau des particules argileuses, elles forment avec ces dernières le complexe absorbant du sol.

Toutes ces matières organiques stabilisées, résistantes et néoformées constituent ensemble l'humus au sens large de ce terme ; mais celui-ci a reçu des significations bien différentes suivant les auteurs. En première approximation, on peut le considérer comme formant les réserves organiques du sol.

Ce n'est pas à dire que l'humus soit inerte : il est plus ou moins susceptible de s'oxyder spontanément à l'air, mais surtout, il est attaqué peu à peu par des micro-organismes qui le minéralisent progressivement et à des vitesses variables suivant ses caractéristiques.

Outre ces réserves que nous voyons se former et se défaire au long des années, le C organique se retrouve encore dans les charbons et les pétroles qui se sont accumulés au cours des temps géologiques et dont les origines sont encore hypothétiques et controversées : les premiers paraissent dériver des lignines alors que les seconds résulteraient, peut-être, de l'altération d'acides gras. Exposé à l'air, le charbon s'oxyde lui aussi spontanément et lentement, mais la minéralisation de ces substances résulte surtout de leur combustion dans les foyers et moteurs.

Pour conclure cet exposé général, nous indiquerons au tableau XVIII les biomasses impliquées dans les trois premières étapes du cycle du carbone selon les évaluations toutes récentes de KOVDA et coll. (1967), mais il s'agit bien entendu de chiffres moyens et approchés.

B. — DÉGAGEMENT DE GAZ CARBONIQUE

Les sources de carbone apportées au sol y sont soumises à la *biodégradation*, c'est-à-dire qu'elles y subissent des transformations conduisant à l'apparition de nouvelles structures moléculaires, qu'il s'agisse de CO_2 ou de composés organiques. Ainsi des sucres solubles se forment à partir de la cellulose, des acides organiques au cours de la fermentation des sucres, etc.

Quels que soient ses voies ou ses intermédiaires métaboliques, la biodégradation a pour terme ultime la production de CO_2 , c'est-à-dire la *minéralisation* de la matière organique.

Si l'on dresse le bilan du carbone dans un écosystème terrestre à l'équilibre, il est évident que les quantités de gaz carbonique dégagé pendant un laps de temps suffisamment long doivent être équivalentes aux quantités de carbone qui lui ont été fournies au cours de la même période. Mais si l'on s'adresse à des intervalles de temps plus courts ou si des déséquilibres apparaissent, le dégagement de gaz carbonique présente des valeurs caractéristiques qui fournissent des indications précieuses sur l'activité biologique globale du sol étudié. Selon POCHON et DE BARJAC (1958), il y a là les bases d'une des méthodes qui permettent d'exprimer cette activité avec le plus de fidélité.

Cependant le CO_2 dégagé par un sol ne provient pas seulement de la respiration de sa microflore et de sa faune. Il est encore fourni par les racines des végétaux supérieurs (environ 30 % du dégagement), par des réactions de décarboxylation biologiques ou catalysées par les colloïdes du sol et enfin par la décomposition des carbonates alcalino-terreux sous l'influence des acides organiques.

Les méthodes de mesure du dégagement de gaz carbonique et les enseignements qu'elles fournissent ont été récemment discutés par DOMMERGUES (1968) et nous nous bornerons à en souligner les aspects essentiels.

La respiration du sol peut être mesurée *in situ* ; les résultats obtenus permettent de calculer, pour chaque écosystème, la fraction de l'énergie consommée par les décomposeurs et d'étudier l'influence des différents facteurs climatiques, édaphiques, biotiques (par exemple, de la végétation) sur l'activité biologique du sol. Suivant les climats, et les modes d'utilisation du sol (forêt, prairie, cultures) les quantités produites oscillent entre des valeurs très faibles et plus de 1 000 mg de $\text{CO}_2/\text{m}^2/\text{heure}$.

La respiration du sol peut aussi être étudiée au laboratoire sur des échantillons non enrichis (respiration dite endogène) ou additionnés d'aliments dont on veut étudier l'influence sur le métabolisme du sol. Les résultats ainsi obtenus sont fort intéressants même si leur interprétation est généralement délicate et si l'on ne peut être assuré qu'ils représentent fidèlement les processus naturels.

Les résultats de ces expériences sont exprimés dans deux sortes de courbes :

— des courbes cumulatives représentant le volume ou le poids total (Y) de CO_2 dégagé au cours de l'expérience entre deux instants donnés. Ce sont des courbes d'allure sigmoïde ;

— des courbes d'intensité respiratoire figurant les variations du dégagement instantané de CO_2 , suivant l'expression

$$R = \frac{dY}{dt}.$$

On obtient ainsi des courbes en cloche dissymétrique dont l'examen permet de reconnaître :

— une phase de latence correspondant à une période d'adaptation de la microflore aux conditions expérimentales et, en particulier, aux substrats apportés ;

— une phase logarithmique en relation avec la croissance de la microflore active. La pente de la courbe, la position du pic dans le temps renseignent sur l'aptitude du sol à utiliser l'aliment fourni ou les réserves de l'humus.

On y reconnaît encore parfois des pics successifs correspondant à autant d'étapes métaboliques assurées par des vagues microbiennes différentes. Elles peuvent aussi correspondre à l'utilisation du substrat (oxydation primaire), puis à celle des produits accumulés au cours de la dégradation de ce dernier (oxydation secondaire).

C. — MÉTABOLISME DES SOURCES DE CARBONE

La matière organique présente dans le sol est infiniment variée et peut comprendre n'importe quelle molécule naturelle. Sa source principale se trouve dans les débris végétaux qui lui sont apportés et qui y subissent des transformations progressives.

Nous ne pouvons étudier ici tous les problèmes posés par la dégradation des matières organiques et nous nous limiterons à quelques catégories dont l'importance est considérable.

Ce sont :

a) **Les glucides.** — Ils comprennent des *sucres simples*, dont l'étude est intéressante et surtout permet d'élucider les voies de la dégradation des substances de cette première famille.

Ils comprennent encore des *polyosides*, les uns substances de réserve (amidon, glycogène), les autres constituants des parois cellulaires (cellulose, composés pectiques, polyosides neutres groupés sous le nom d'hémicelluloses). On en rapprochera les polymères des amino-sucres tels que la chitine.

b) **Des substances aromatiques.** — Parmi celles-ci, nous envisagerons des substances simples, en particulier les *phénols*, pour les mêmes raisons que dans le cas des sucres, mais aussi les polymères, tannins et surtout *lignine* dont les modalités de dégradation dans le sol sont encore mal connues et dont le rôle dans la formation de l'humus sera discuté ailleurs.

c) **Des constituants hydrophobes.** — Hydrocarbures, cires, cutine, graisses.

I. — LES GLUCIDES

Les glucides présents dans les sols sont de nature très variée. Les uns appartiennent aux cadavres de la flore ou de la faune ou aux déjections de celle-ci ; ils sont alors fournis de l'extérieur à l'écosystème édaphique. Ce sont des hétérosides, des polyosides neutres, des dérivés uroniques d'origine végétale ainsi que du glycogène, des galactanes, de la chitine, des polyosides azotés et soufrés (acide hyaluronique, chondroïtine sulfate, etc.) d'origine animale.

Ils peuvent d'autre part provenir de synthèses intervenant dans le sol. Ils sont alors représentés principalement par les parois et mucilages des Bactéries et des Champignons. Chez les premières, il s'agit de chaînes mucopolysidiques d'acide acétyl-muramique et d'acétyl-glucosamine ainsi que de polyosides des capsules et zoogléas. Chez les Cham-

pignons, il s'agit de chitine, parfois de cellulose et aussi de polysides neutres et de polyuronides.

Enfin, les glucides du sol se trouvent pour une large part liés aux acides humiques et surtout fulviques.

1° Les sucres

Les sucres simples et les oligosides solubles sont présents en quantités relativement faibles dans les débris végétaux lorsque ces derniers font retour au sol ; seuls, glucose, fructose, saccharose et quelques autres diholosides peuvent exister en quantités appréciables ainsi que des hétérosides.

En effet, les sucres simples et les oligosides sont, sauf exception — saccharose de la Betterave ou de la Canne à sucre — des composés transitoires intermédiaires de la synthèse et de la dégradation des polysides.

Ils atteignent le sol par lessivage des feuilles vivantes : sous couvert de Chêne, CARLISLE (1965) a recueilli jusqu'à 86 kg/ha/mois de matière organique dont une large part était composée de sucres (glucose, fructose, oligosides).

Ils atteignent encore le sol avec les cadavres de la végétation ou bien ils s'y forment par dégradation des polysides.

En outre, les sucres solubles sont, pour la plupart, des substances très facilement utilisables par les micro-organismes les plus divers de sorte que leur introduction dans le sol déclenche une stimulation des activités biologiques et par conséquent leur consommation rapide.

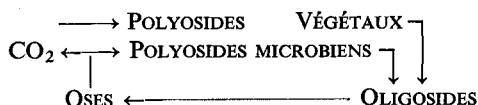
On peut extraire du sol, par l'eau ou l'éthanol à 70 ou 80 %, des sucres libres variés, dont le plus répandu est le glucose. Il est parfois seul présent (tourbes) mais il est plus souvent accompagné d'autres hexoses (galactose, mannose) et de pentoses (arabinose, xylose, ribose). Enfin, on a décelé la présence d'oligosides intermédiaires de la dégradation de la cellulose (ROBERT, 1964 ; tableau XIX).

TABLEAU XIX. — SUCRES LIBRES DE QUELQUES SOLS DANS LA NATURE
ET APRÈS INCUBATION
(d'après ROBERT, 1964)

	XYLOSE		GLUCOSE		CELLOBIOSE		CELLOTRIOSE		ARABINOSE		GENTIOBIOSE	
	Frais Incubé		Frais Incubé		Frais Incubé		Frais Incubé		Frais Incubé		Frais Incubé	
Terreau	+++	+++	++	+	++	++	-	-	-	-	-	-
Prairie	-	-	+	++	-	-	-	-	++	+	++	+
Mor	-	-	+	++	++	-	-	-	+++	+++	++	+++
Mull	-	-	+	+	++	++	++	-	++	++	++	++
Rendzine	-	-	+	+	++	++	++	-	++	++	-	+

Mais l'ensemble des sucres solubles dépasse rarement 2 % du C organique total du sol. Les podzols en sont les plus riches avec quelque 250 ppm contre 23 au plus dans un sol à gley (GUPTA et SOWDEN, 1963). La dessiccation modifie leur concentration, le gel l'accroît, tandis que l'incubation au laboratoire tend à réduire la teneur en oligosides et à faire apparaître des quantités accrues de glucose.

Cette dernière remarque illustre le fait que l'équilibre des glucides dans le sol est un équilibre dynamique et plus précisément cyclique.



Aussi les teneurs de chaque catégorie peuvent-elles demeurer constantes — dans la mesure où les apports sont constants — sans qu'il y ait là une preuve de leur stabilité. Leur concentration est le reflet de la différence existant entre leurs vitesses d'apparition et de disparition.

Métabolisme des glucides. — Dans leur très grande majorité, les micro-organismes du sol sont des chimio-organotrophes utilisant comme source d'énergie et de carbone des substances organiques dont les principales sont des hexoses.

Ces derniers sont dégradés suivant des voies diverses (tableau XX) au cours desquelles apparaissent des chaînes carbonées en C₃, C₄, C₅ qui s'engagent, pour partie, dans des processus de synthèse (ADN, ARN, protéines) conduisant à l'édification de nouveaux protoplastes. En même temps, une autre partie de ces fragments est entraînée dans des processus dont les étapes essentielles sont des oxydations couplées à la réduction d'accepteurs d'H ou d'électrons. Les accepteurs intermédiaires sont généralement des dérivés pyridiniques (NAD, NADP) ou des flavoprotéines (FP) qui sont réoxydés et recyclés grâce à la réduction d'un accepteur final. Ces oxydations biologiques sont liées à la synthèse de molécules riches en énergie (ATP) utilisables par l'organisme pour assurer ses synthèses, ses mouvements, le maintien de sa structure.

Si l'accepteur final est une molécule organique — cas, par exemple, de la réduction de l'acide pyruvique en acide lactique — le produit de cette réduction s'accumule sous forme de déchets dont l'énergie libre est encore assez élevée. On obtient ainsi des alcools, des acides organiques volatils ou fixes, des amines, etc., accompagnés ou non de gaz (CO₂, H₂, CH₄). La libération d'énergie et la minéralisation, c'est-à-dire le dégagement de CO₂ sont alors réduits :



Si l'accepteur final est l'oxygène atmosphérique, les fragments alimentent des processus cycliques au cours desquels le C est peu à peu minéralisé : le dégagement de CO₂ et la libération d'énergie sont, en principe, totaux :

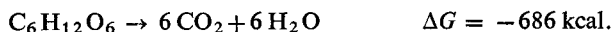
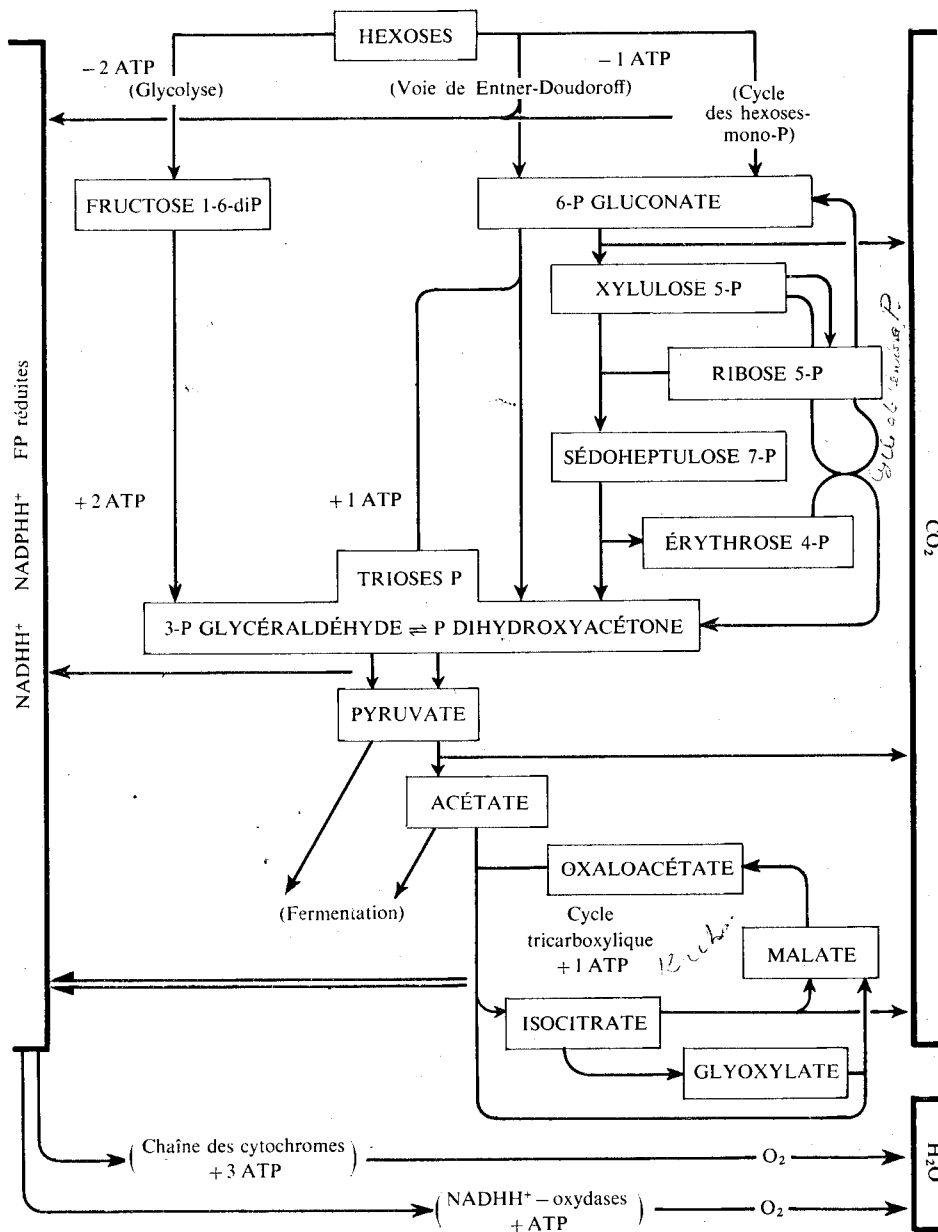


TABLEAU XX. — SCHÉMA DES VOIES DU MÉTABOLISME DES HEXOSES



Ce dernier cas est possible seulement si l'approvisionnement en O_2 est illimité, c'est-à-dire en aérobiose ; on parle de respiration.

Si, au contraire, l' O_2 fait défaut, c'est-à-dire en anaérobiose, c'est le premier type de processus qui intervient ; on parle de fermentation.

Dans le sol, comme dans une culture non agitée, par exemple, il est fréquent, même en présence d'air, que les quantités d' O_2 disponibles ne soient pas suffisantes pour répondre à la demande ; des processus respiratoires et fermentaires interviennent alors en proportions variables suivant la gravité de la carence en oxygène.

Inversement, les sols renferment des minéraux oxydés (nitrates, sulfates, sels ferriques, manganiques, etc.) qui permettent une respiration anaérobie.

Voies du métabolisme des hexoses. — Les hexoses fournissent les molécules en C_3 , C_4 , C_5 au cours de processus de dégradation tels que :

— la glycolyse (EMP), ou voie d'EMBDEN-MEYERHOF, qui passe par l'intermédiaire d'hexoses-diphosphates ;

— le cycle des hexoses-monophosphates ou encore des pentoses-phosphates (HMP) qui fournit tous les types de chaînes carbonées de C_3 à C_7 et alimente ainsi directement les synthèses nucléiques (ribose) comme aussi les synthèses aromatiques *via* les chaînes en C_4 ;

— la voie d'ENTNER-DOUDOROFF (ED), connue jusqu'ici seulement chez certains *Pseudomonas* et quelques Champignons (GOTTLIEB, 1963).

Ces deux dernières voies passent par l'intermédiaire du gluconate dont le précurseur est la glucono- δ -lactone.

En étudiant l'effet de l'irrigation d'un sol par une solution de glucose, VANCURA et ses collaborateurs (1964) ont montré la présence, dans l'effluent, de ces deux derniers produits prouvant ainsi l'intervention du cycle HMP.

On peut alimenter un sol en glucose marqué uniformément (U)- ^{14}C ou sur l'un ou l'autre de ses atomes de carbone [(1)-, (2)-, (3,4)- ou (6)- ^{14}C] en présence ou en absence d'un inhibiteur de certaines enzymes, l'iodacétamide. Suivant la vitesse d'apparition du $^{14}CO_2$, on peut déduire les importances respectives des trois voies ci-dessus, ainsi que celle du cycle tricarboxylique. C'est ce qu'a fait MAYAUDON (1968). Il n'est pas possible, sur le vu d'un seul travail, de porter des conclusions générales au sujet des voies du métabolisme dans le sol ; ce dernier est un milieu trop variable et comprenant des populations trop diverses.

Il faut noter cependant que les résultats obtenus sont différents suivant que le sol est fumé (N, P, K, Ca, Mg) ou non (témoin), ce qui dénote de profondes modifications de la microflore. Le sol ne respire pas non plus suivant les mêmes voies que des cultures pures ; par rapport à ces dernières, on constate une exaltation de la voie des HMP et le fait est plus marqué dans le sol témoin. La fumure fait apparaître la voie d'ENTNER-DOUDOROFF, c'est-à-dire qu'elle stimule une fraction de la microflore comprenant sans doute des *Pseudomonas* (tableau XXI).

Les voies métaboliques d'une population complexe sont donc bien différentes de celles de micro-organismes isolés. Ce fait est-il lié aux propriétés colloïdales des sols,

TABLEAU XXI. — VOIES MÉTABOLIQUES COMPARÉES D'UN SOL FUMÉ, DE SON TÉMOIN NON FUMÉ ET DE CULTURES PURES BACTÉRIENNES ET FONGIQUES (d'après MAYAUDON, 1968)

VOIES OU CYCLES en % de la respiration totale	PARCELLES	
	TÉMOIN	FUMÉE
EMP	30	33
HMP	48	42
ED	0	14
Cycle tricarboxylique	22	10
Rapport $\frac{\text{HMP}}{\text{EMP}}$	1,6	1,0 ^(a)
Ce rapport varie entre 0,03 et 0,38 dans le cas de cultures pures de Champignons, <i>E. coli</i> , <i>Bacillus</i> .		

(a) En tenant compte de l'intervention de la voie ED.

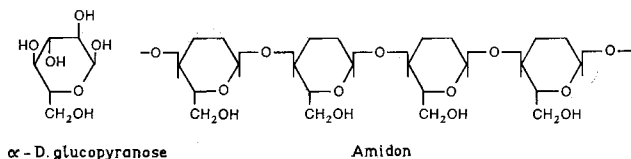
ou à la nature particulière de la microflore autochtone, ou encore à un état physiologique particulier du peuplement? Ce sont les hypothèses qu'envisage MAYAUDON. Nous rappellerons seulement que l'attaque d'une plante par un Champignon parasite altère aussi son métabolisme en exaltant la voie des HMP (URITANI et AKAZAWA, 1959). La microflore du sol n'est-elle pas composée essentiellement d'organismes sur la « défensive » vis-à-vis de compétiteurs, de prédateurs, de parasites?

2° Les polysides

a) POLYOSIDES DE RÉSERVE

L'amidon est présent, à titre transitoire, dans les feuilles, surtout chez les Dicotylédones, et s'accumule dans les organes de réserve (racines, rhizomes, tubercules, graines) mais aussi dans les tiges aériennes. On le rencontre en faible quantité chez les Algues vertes alors qu'il est remplacé, chez les Bactéries et les Champignons, par d'autres polysides (granulose, glycogène). Mais, dans les conditions normales, il est mobilisé avant la mort de la cellule de sorte qu'il atteigne le sol en quantités plus ou moins réduites.

L'amidon est un mélange, en proportions variables suivant les espèces et les variétés, de deux constituants, l'amylose composé de longues chaînes presque simples d'unités glucosyle reliées entre elles par des liaisons glucosidiques α -(1,4) et l'amylopectine dont la molécule très ramifiée est composée de chaînes du type précédent reliées à une chaîne principale par des liaisons α -(1,6).



La dégradation de l'amidon comporte des phénomènes d'hydrolyse catalysés par des α -glucosidases inductibles qui rompent les liaisons glucosidiques 1,4 en donnant des dextrines et finalement du maltose : ce sont des amylases, variables suivant les micro-organismes, et parmi lesquelles on a reconnu l' α -amylase qui fournit des dextrines et très peu de glucose. Finalement, on obtient surtout de l' α -maltose et d'autres oligosides à liaisons 1,4 et 1,6. Elle paraît agir progressivement à partir de l'extrémité non réductrice de la chaîne ; lorsqu'une liaison 1,6 est atteinte, la dégradation s'arrête.

On distingue encore la β -amylase qui fournit du β -maltose par suite d'un phénomène d'inversion optique au cours de l'hydrolyse. L'amylose est dégradé totalement mais la décomposition de l'amylopectine reste partielle en raison de la présence de liaisons 1,6 et il se forme des dextrines particulières.

On connaît enfin une amylase de *Bacillus macerans* qui fournit des dextrines cycliques à 6 ou 7 unités glucosyle.

Nombreux sont les micro-organismes qui produisent des amylases, qu'il s'agisse de Bactéries Gram+ ou Gram-, sporulées ou non, aérobies ou anaérobies, de Champignons filamenteux depuis les Mucorales jusqu'aux Hyménomycètes et, enfin, d'Actinomycètes. Cependant, tous les micro-organismes ne sont pas amylolytiques et, en particulier, les Levures le sont rarement.

Les amylases sont inactives sur les liaisons 1,6 et ces dernières sont hydrolysées dans l'amidon et les dextrines par les amylo- α -1,6-glucosidases des Levures. De plus, dans le cas de certaines dextrines, interviennent des oligo-1,6-glucosidases fongiques.

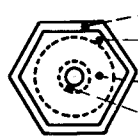
Quoi qu'il en soit, l'amidon est rapidement décomposé dans tous les sols et son addition à une terre ne paraît pas stimuler le développement d'une microflore spéciale ; c'est plutôt l'ensemble de l'activité biologique qui se trouve exaltée, la composition de la population étant déterminée davantage par les caractères du milieu : température, aération, pH, autres aliments, etc.

Cependant, la diversité des équipements enzymatiques permet de comprendre l'existence d'une certaine variabilité dans les modes de dégradation de l'amidon : de nombreux micro-organismes ne l'utilisent que partiellement *in vitro* et, après avoir fragmenté les chaînes polyosidiques, laissent un résidu de dextrines. Au contraire, les *Clostridium* peuvent le fermenter de façon complète et sa dégradation est particulièrement active en anaérobiose (POCHON et DE BARJAC, 1958). De même différents auteurs ont noté que, suivant leur origine, les amidons étaient plus ou moins facilement et rapidement utilisés : celui de Riz est attaqué par un grand nombre de micro-organismes, ceux de Pomme de terre ou de Maïs sont plus résistants (STARK et TETRAULT, 1951).

Suivant les sols, la flore amylolytique peut être homogène ou composée de groupes d'activités inégales (AUGIER et MOREAU, 1958).

Les fructosanes et polyfructosanes sont des composés linéaires à chaînes plus ou moins courtes, formées d'unités fructose reliées entre elles par des liaisons glucosidiques variables. A cette famille appartiennent l'inuline des Campanulales, caractérisée par ses liaisons (1,2), les fructosanes des feuilles de Graminées possédant des liaisons (2,6), les lévanes élaborés par certains micro-organismes (*Bacillus*, *Pseudomonas*). Les hydro-

TABLEAU XXII. — CONSTITUANTS GLUCIDIQUES DE LA PAROI ET LEUR RÉPARTITION DANS LES DIFFÉRENTES COUCHES DE CELLE-CI



	Bouleau			Pin		
P	41	25	30	33	8	46
S ₁	50	44	3	55	18	9
S ₂	48	48	2	64	24	1
S ₃	60	35	0	64	24	0
	Cellulose Hémicellulose Composés pectiques					

lases nécessaires à leur dégradation semblent assez répandues chez les Bactéries, les Actinomycètes et les Champignons ; on peut donc supposer qu'ils sont rapidement détruits dans les sols mais, à vrai dire, nos renseignements sont peu nombreux.

b) LES GLUCIDES DES PAROIS CELLULAIRES

Les parois, chez les végétaux supérieurs, ont une structure complexe dont on peut donner comme exemple celle des fibres ligneuses (tableau XXII).

On y reconnaît, à l'extérieur, une lamelle mitoyenne séparant la fibre des cellules voisines ; elle est doublée intérieurement d'une paroi primaire P formée pendant la croissance de la cellule, puis d'une paroi secondaire déposée ultérieurement. Dans celle-ci, on peut reconnaître à nouveau trois couches concentriques S₁, S₂, S₃.

Si l'on traite un tissu végétal par une lessive alcaline (NaOH 17,5 %) une partie des glucides se dissout : ce sont les glucides « secondaires », hémicelluloses et composés pectiques, et il subsiste un résidu formant l' α -cellulose.

Dans certains tissus, la paroi ainsi définie s'incruste peu à peu de lignine qui se dépose à partir de la lamelle mitoyenne, dans la paroi primaire et, souvent aussi, les couches S_1 et même S_2 et S_3 . Ailleurs, c'est de la subérine qui se dépose.

Plus les tissus végétaux avancent en âge, plus leurs parois s'épaississent et représentent par conséquent une fraction importante de leur matière sèche. Au moment de la sénescence, les réserves cellulaires sont mobilisées et exportées, la synthèse des protéines est suspendue et ces substances sont partiellement détruites par une sorte d'auto-lyse.

Aussi, sauf dans le cas d'une intervention artificielle comme l'enfouissement d'engrais verts, les débris végétaux, lorsqu'ils atteignent le sol, sont constitués pour une large part de parois cellulaires. La somme des hémicelluloses, cellulose et lignine représente environ 45 % de la matière sèche totale dans les jeunes chaumes de Seigle et les sommités de Luzerne, 55 % dans les feuilles mortes de Chêne ou de Pin, 75 % dans les pailles de Seigle après la moisson (WAKSMAN et TENNEY, ap. WAKSMAN, 1952 ; fig. 20).

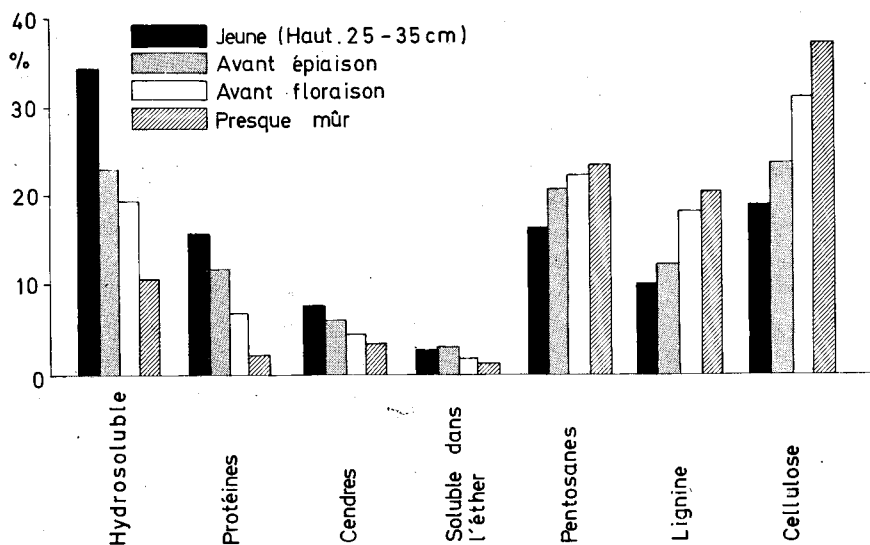


FIG. 20. — Influence de l'âge sur la composition chimique de l'Orge (WAKSMAN, 1952).

Parmi les Champignons, la cellulose existe chez certaines formes inférieures mais est remplacée, beaucoup plus souvent, dans son rôle de charpente fondamentale par la chitine et d'autres polyosides azotés ou non que l'on peut rapprocher des hémicelluloses des végétaux supérieurs, en se basant sur les critères de solubilité. On y trouve en outre des protéines et, dans de nombreux cas, des substances dosables avec la lignine. Enfin, chez les espèces fuligineuses, Ascomycètes et Deutéromycètes Dématiées, la paroi est incrustée de pigments amorphes et sombres que l'on qualifie de mélanines.

Chez les Bactéries, les mucopolyosides signalés précédemment sont associés à des protides pour constituer la charpente fondamentale de la paroi. Ils y sont accompagnés d'autres polyosides et de polymères azotés et phosphatés, les acides teichoïques, chez les Bactéries Gram +, de complexes lipo-protéiques chez les Bactéries Gram —.

Nous envisagerons successivement :

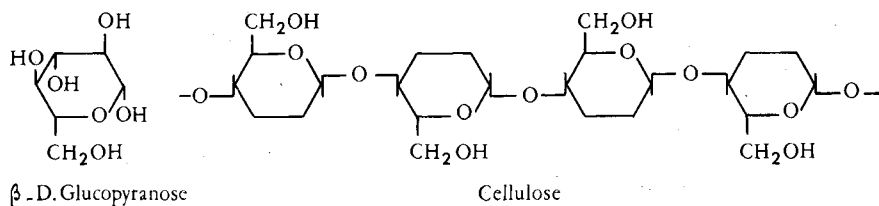
1. La cellulose ;
2. Les glucides secondaires ;
3. La chitine et les mucopolyosides bactériens.

a) **Décomposition de la cellulose.** — C'est probablement l'étape la mieux connue du cycle du carbone grâce, entre autres, aux nombreux travaux qu'ont suscités les dommages occasionnés aux textiles (SIU, 1951) ou aux produits papetiers par les micro-organismes cellulolytiques.

Cette étape n'est pas moins importante pour la microbiologie du sol, ne serait-ce qu'en raison des masses considérables de cellulose restituées chaque année au sol par la végétation.

En effet, chez les plantes âgées tout au moins, cette substance constitue la fraction la plus importante, en poids, de la matière sèche totale : 15 à 30 % des organes verts, 30 à 50 % des pailles et des bois selon les estimations courantes. C'est-à-dire que l'on peut évaluer à, au moins, 10×10^6 tonnes la quantité de carbone fixée annuellement sous forme de cellulose par la végétation, quantité qui doit être décomposée pendant le même laps de temps.

1° **Nature et structure de la cellulose.** — Le terme cellulose désigne un ensemble de polyosides formés de longues chaînes d'unités β -D-glucopyranose réunies entre elles par des liaisons glucosidiques (1,4). Il s'agit donc d'un glucane.



Ces chaînes, malgré leur composition chimique uniforme, ne sont pas toutes identiques. Elles comprennent au moins 8 000 restes glucosyle mais se relient par une suite continue d'intermédiaires jusqu'à de petits polymères formés seulement d'une quinzaine d'unités.

De plus, la structure physique de la cellulose est variable : les chaînes élémentaires sont réunies en microfibrilles au sein desquelles on peut distinguer des mailles cristallines séparées les unes des autres par des régions amorphes. Au niveau des mailles, les chaînes sont fortement unies, peut-être par des ponts H et des forces de Van der Waals,

alors que leurs liaisons sont plus lâches dans les zones amorphes ; mais leur disposition est encore discutée et l'on ne sait pas si elles sont en extension ou reploquées sur elles-mêmes (NORKRANS, 1967).

Les microfibrilles s'unissent à leur tour pour former des fibrilles dont la disposition varie suivant les espèces, les cellules et même les différentes couches d'une paroi cellulaire donnée. Dans la paroi primaire, elles n'ont pas d'orientation privilégiée alors que, dans chaque couche de la paroi secondaire, l'angle formé par les fibrilles et le grand axe de la fibre est constant et caractéristique de la couche considérée (fig. 21) ;

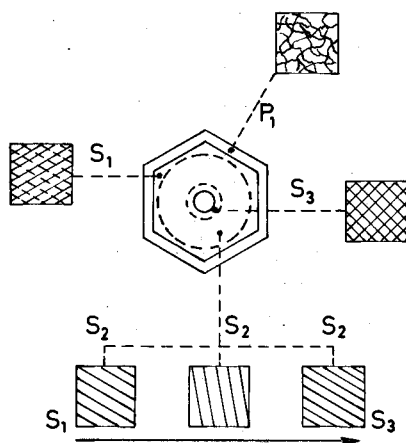


FIG. 21. — Disposition des fibrilles dans la paroi cellulaire (JURAŠEK et coll., 1967, simplifié).

de la cellulose qu'ils contiennent. Nous ne pouvons nous étendre sur ces questions dont COWLING (1963) a discuté récemment, mais il faut en retenir que la nature des substrats utilisés pour mesurer le pouvoir cellulolytique des sols (papier, cellophane, cellulose précipitée, CMC = carboxyméthyl-cellulose) influe sur les résultats observés, mais surtout que la cellulose, dans la nature, est un aliment variable, inégalement sensible aux actions microbiennes suivant son origine et possédant, en conséquence, des significations écologiques diverses.

Ainsi, la sensibilité aux attaques microbiennes est moindre chez les fibres dont la fraction cristalline est importante, peut-être parce que cette dernière est moins facilement pénétrable par les enzymes que les fractions amorphes de structure plus lâche.

De même, on utilise de plus en plus souvent pour l'étude des micro-organismes cellulolytiques des dérivés de la cellulose dont l'usage est pratique en raison de leur transparence ou de leur solubilité, mais qui n'ont pas le même pouvoir électif que la cellulose naturelle. Nous verrons plus loin, en effet, que l'hydrolyse d'une fibre réclame un équipement enzymatique plus complet que la simple hydrolyse d'une chaîne polyosi-

il y a là un facteur essentiel pour la détermination des qualités mécaniques de résistance et d'élasticité des fibres.

Dans les parois, les chaînes de cellulose jouent un rôle comparable à celui de l'armature dans un béton qui serait composé ici de polysides secondaires associés ou non à la lignine, ou à des cires, des résines, des tannins, des pigments ; la nature et l'abondance relative de ce béton varient suivant les espèces et les tissus.

Suivant sa structure, l'orientation des fibrilles, la nature des constituants secondaires, les particularités anatomiques de la cellule (fissures dans les fibres, par exemple), la cellulose montre des comportements différents vis-à-vis des agents biologiques de dégradation.

A cela s'ajoute que les traitements mécaniques ou chimiques auxquels ont été soumis les produits industriels ont altéré les propriétés

dique. En outre, les substituants introduits influent sur le comportement de la molécule, en fonction de leur nombre (DS = degré de substitution) et de leur nature (effets stériques et électroniques).

2° Organismes cellulolytiques. — L'aptitude à dégrader la cellulose se rencontre chez des micro-organismes très divers : Bactéries, y compris les Actinomycètes, Champignons filamenteux, Myxomycètes et Protozoaires. Elle n'a jamais été signalée ni chez les Levures, ni chez les Algues (fig. 22).

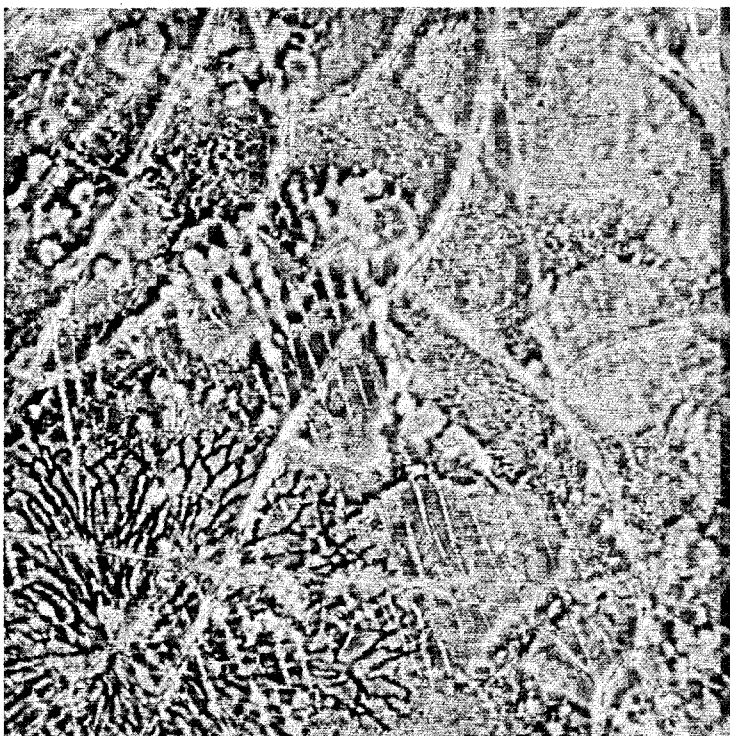


FIG. 22. — Aspect d'une feuille de cellophane introduite depuis 28 jours dans l'humus brut d'une forêt de Chêne. Remarquer la présence de *Cytophaga*, de filaments mycéliens et, au centre, un début d'attaque probablement par un Gastéropode (photo due à l'obligeance de M^{lle} Dr J. C. WENT).

Mais, dans chacun de ces groupes, elle est limitée à un petit nombre d'espèces, voire même à certaines souches seulement.

Les Bactéries actives appartiennent aux différents ordres de la classification : ce sont des Eubactéries (Pseudomonadales des genres *Vibrio* et *Cellvibrio* ; Eubactériales des genres *Cellulomonas*, *Bacillus* et *Clostridium*).

Les *Clostridium* sont les principaux agents de la cellulolyse anaérobie ; ils sont peu répandus dans les sols normaux (quelques centaines à quelques milliers d'individus par gramme de terre). Ils sont plus nombreux dans les sols submergés, les tourbières, les vases, les fumiers, etc. Mais les difficultés de leur étude font que l'on est assez mal renseigné sur leur efficacité dans les conditions naturelles et donc sur leur importance écologique.

Les formes aérobies et notamment les *Cellvibrio* sont fréquentes dans les litières et les horizons organiques, mais l'activité de ces Bactéries est généralement faible et incomplète. On admet qu'elles peuvent décomposer, au maximum, 50 à 60 % de la cellulose en 15 à 20 jours. Leur action sur le papier se traduit surtout par l'apparition de taches colorées au niveau desquelles l'opacité du substrat n'est pas modifiée.

Les Myxobactériales sont plus riches en espèces actives et surtout plus efficaces au point que certaines d'entre elles aient été considérées autrefois comme des cellulolytiques obligatoires, incapables de croître en l'absence de cellulose. Les mieux connues sont des *Cytophaga* et *Sporocytophaga*, mais d'autres genres (*Sorangium* et *Polyangium* en particulier) en renferment aussi. Certaines Myxobactéries sont capables de dégrader rapidement et complètement la cellulose : au niveau de leurs colonies caractéristiques, colorées et mucilagineuses, le papier filtre peut disparaître ou du moins devenir translucide. Mais les Myxobactéries sont en général peu nombreuses surtout dans les sols vierges où elles ne dépassent guère quelques centaines d'individus à quelques dizaines de mille par gramme de terre. Elles sont plus abondantes dans les sols cultivés enrichis en azote. Mais, même alors, leur rôle est probablement inférieur à celui des Champignons.

Les Actinomycètes apparaissent parfois très tôt et en nombre élevé sur les matériels cellulosiques déposés à la surface de certains sols (humus bruts, sols cultivés enrichis en phosphates : GRIFFITHS et JONES, 1963) et leurs aptitudes ne peuvent plus être mises en doute. Comme ils sont nombreux (jusqu'à 500 000 par gramme de terre) et susceptibles de croître entre de larges limites de pH (5,5 à 9,5), on serait tenté de croire qu'ils jouent un rôle important. Cependant leur croissance est lente et limitée et leur activité, dans la nature, est souvent tenue pour faible.

Il faudrait ajouter à l'énumération précédente les Bactéries — et aussi les Protozoaires — vivant dans le rumen des Herbivores ou dans le tube digestif des Insectes. Sans doute n'appartiennent-ils pas à la microflore du sol, mais leur rôle dans la décomposition de la cellulose est considérable et devait être mentionné.

Parmi les Champignons inférieurs, l'aptitude à dégrader la cellulose est peu répandue ; elle a été rarement signalée chez les Zygomycètes (*Rhizopus* sp.). Les Ascomycètes et les Deutéromycètes comprennent au contraire un grand nombre d'espèces actives mais dont l'efficacité est très inégale. Certains *Penicillium* (*P. funiculosum*, *P. purpurogenum*), *Verticillium* et *Alternaria* sont capables de détruire, en 30 jours, 80 % du papier filtre sur lequel on les cultive. On citera encore les *Chaetomium*, *Acremoniella*, *Monotospora*, *Myrothecium*, *Oidiodendron*, *Stachybotrys*, certains *Aspergillus* et *Fusarium*, etc.

Les *Trichoderma* (*viride*, *koningi*) sont peut-être les Champignons-tests les plus utilisés au laboratoire et ceux dont les modes d'action sont donc parmi les mieux connus. Mais leur rôle dans la nature demande à être précisé, car ils colonisent rarement les pièges cellulotiques déposés sur ou dans le sol (TRIBE, 1960 ; KIFFER et MANGENOT, 1968).

Les Basidiomycètes supérieurs comprennent de nombreuses espèces puissamment cellulolytiques au premier rang desquelles il faut signaler les Rhizoctones et divers Champignons des litières, bois pourris et autres débris végétaux. Certains n'attaquent que la cellulose et les polyosides secondaires (*Clitocybe laccata*), d'autres dégradent aussi la lignine et nous en parlerons en étudiant la décomposition de cette dernière.

L'action des Champignons sur la cellulose est sans doute moins rapide et moins spectaculaire que celle des Myxobactéries. Mais comme leur répartition est plus vaste, leur pouvoir de pénétration plus élevé, il faut admettre que leur rôle, dans la nature, est plus important que celui des Bactéries.

3° Modes d'attaque. — Les Bactéries s'appliquent à la surface des matériels cellulotiques, au niveau des régions amorphes et si étroitement qu'il est souvent difficile de les en distinguer, mais elles ne pénètrent dans le lumen des fibres que si ces dernières ont été brisées. Les premiers signes d'attaque se traduisent par des corrosions peu étendues, progressant lentement et situées au niveau de la lamelle mitoyenne ou éventuellement du lumen.

Les Champignons sont, au contraire, capables de traverser les parois cellulaires, par exemple au niveau des fissures ou des ponctuations, et leur attaque peut débiter par le lumen ; sous leur action, les fibres gonflent, se marquent de stries de plus en plus profondes, puis leurs caractères de coloration par l'iode changent, prouvant des altérations de leur structure physique et la formation de substances intermédiaires que l'on a comparées à des dextrines. Finalement, suivant les espèces, le matériel disparaît complètement ou se transforme en une masse mucilagineuse.

Cependant, dans tous les cas, les transformations subies par la cellulose consistent principalement en une hydrolyse progressive avec rupture des chaînes glucosidiques et production de sucres réducteurs : glucose et cellobiose à cellotétraose. En même temps, les micro-organismes synthétisent d'autres sucres (diholosides à tétraholosides de structures différentes) et parfois des mucilages qui ont surtout été étudiés dans le cas des Myxobactéries (CHARPENTIER, 1968).

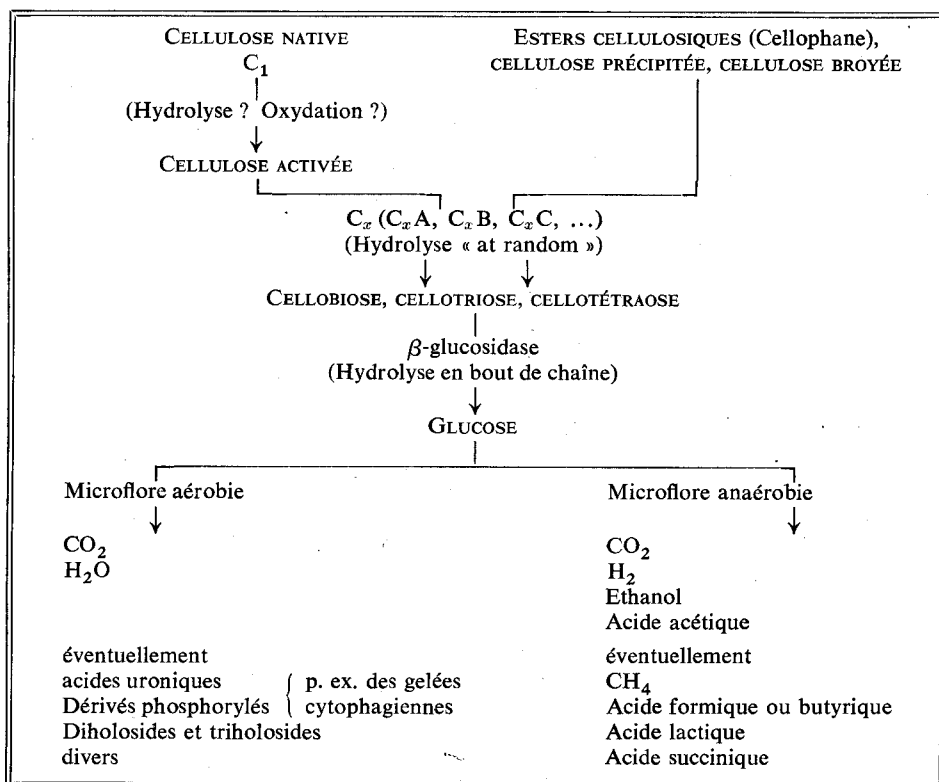
4° Mécanismes enzymatiques. — Ils sont encore imparfaitement connus malgré les nombreuses recherches dont ils ont été l'objet au cours des vingt dernières années.

Les problèmes qu'ils soulèvent dépassent largement les préoccupations de ce précis écologique et nous nous contenterons d'un bref résumé ; le lecteur trouvera plus de détails sur cette question dans les mises au point récentes de NORKRANS (1967), JURASEK et ses collaborateurs (1967) et CHARPENTIER (1968).

On désigne sous le nom vulgaire de cellulase un complexe enzymatique susceptible d'hydrolyser les polymères 1,4 du β -D-glucose et comprenant un nombre indéterminé de fractions d'activités différentes.

Un certain nombre de micro-organismes cellulolytiques sont aptes à dégrader des celluloses modifiées : dérivés solubles tels que la CMC ⁽¹⁾ ou, mieux, l'hydroxyéthyl-cellulose, produits gonflés par un traitement acide ou alcalin, ou matériels finement

TABLEAU XXIII. — SCHÉMA DE LA DÉGRADATION ENZYMATIQUE DE LA CELLULOSE



broyés ; mais ils n'attaquent pas la cellulose native telle qu'elle existe, par exemple, dans un poil de Coton.

- D'autres espèces sont, au contraire, capables de fragmenter le produit naturel jusqu'au stade glucose.

Cette différence de comportement peut s'expliquer si l'on admet l'existence de trois types d'action distincts (tableau XXIII).

Le premier (C₁) semble conditionner une transformation de la cellulose fibreuse qui rend cette dernière sensible à une deuxième enzyme, une hydrolase C_x fragmentant le substrat en unités plus petites. Ces dernières sont alors dédoublées par une troisième fraction (cellobiase) en donnant du glucose qui s'engage dans les voies déjà connues du métabolisme des hexoses.

(1) = Carboxyméthylcellulose.

La cellulose étant insoluble, les fractions C_1 et C_x sont nécessairement diffusibles alors que la cellobiase peut être intra-cellulaire ou extra-cellulaire. Or, il arrive que les filtrats de culture d'un organisme puissamment cellulolytique soient inactifs sur la cellulose fibreuse et le facteur C_1 a été interprété diversement et reste mystérieux. On a pensé qu'il correspondait à une enzyme diffusible, mais rapidement inactivée par liaison à son substrat.

D'autre part, on a réussi parfois à isoler trois fractions enzymatiques distinctes. La première provoque un découpage des fibres en petits fragments un peu comme le fait une hydrolyse acide partielle ; on peut supposer qu'elle correspond à C_1 et son action paraît s'exercer sur les régions cristallines de manière à rompre certaines liaisons entre chaînes, par exemple, des ponts H, de sorte que le produit devient apte à gonfler en présence d'eau. Les chaînes ne sont pas encore hydrolysées, mais simplement écartées, ce qui permet à la seconde fraction C_x de les atteindre. NORKRANS (1967) formule l'hypothèse que l'effet C_1 pourrait consister en un transfert d'électron jusqu'au site d'attaque grâce à des transporteurs tels que flavine ou cytochrome.

La fraction C_x est moins mystérieuse dans son mode d'action, mais semble très hétérogène et pourrait correspondre à des mélanges variables de plusieurs isoenzymes ou de fractions différant entre elles par leur aptitude à attaquer des chaînes plus ou moins longues (SELBY, 1963), à moins qu'il ne s'agisse simplement de complexes enzymes-glucides.

Quoi qu'il en soit, l'attaque des chaînes polyosidiques se produit en principe au hasard, en des points quelconques (action endoglucanase) les découpant ainsi en fragments de plus en plus courts. On obtient de la sorte du glucose et des diglucosides à tétraglucosides solubles, donc absorbables.

La troisième fraction est une β -glucosidase (cellobiase) qui a le caractère d'une exo-enzyme (action exoglucanase) attaquant en bout de chaîne de manière à détacher des molécules de glucose. C'est une enzyme à molécule probablement plus volumineuse que celles des C_x et agissant sur les fragments solubles.

Certains organismes ont une activité cellulasique intense de sorte que les fragments libérés ne sont pas entièrement consommés et s'accumulent dans le milieu de culture où l'on peut les mettre en évidence par chromatographie. Dans d'autres cas, l'activité cellulasique est moins intense ou soumise à une régulation de sorte que les fragments sont utilisés au fur et à mesure de leur formation. Tout ceci montre l'extrême diversité des équipements enzymatiques dont disposent les différents micro-organismes.

En conclusion, il importe de distinguer :

— ce que nous appellerons des organismes cellulolytiques *vrais*, parce qu'ils possèdent l'ensemble des fractions C_1 , C_x et exoglucanase, c'est-à-dire qu'ils sont en mesure d'attaquer les fibres naturelles ;

— des organismes cellulolytiques secondaires dépourvus de l'activité C_1 et capables d'attaquer seulement des produits déjà transformés soit par des interventions chimiques (hydrolyse partielle, substitution), soit par des traitements physiques tels que le broyage. Ce sont, par exemple, des agents d'altération des textiles, mais leur rôle, dans

le sol, peut avoir une importance considérable si, comme on est en droit de le penser, la fragmentation des débris végétaux par les représentants de la faune peut préparer le milieu à leur action.

5° Propriétés des enzymes cellulolytiques. — Les cellulases des Champignons sont, tout au moins pour les endoglucanases, des enzymes extracellulaires et non pas libérées par autolyse ; d'ailleurs, sauf exception, les cultures jeunes sont les plus actives.

Chez les Bactéries, au contraire, l'enzyme ne peut être obtenue qu'après lyse des cellules ou même ne peut être extraite comme s'il s'agissait d'une enzyme de contact ou énergiquement liée au substrat.

Les cellulases ne sont produites, *in vitro*, que dans des conditions bien précises de pH, de température, d'aération, de teneur en cations.

Elles semblent être constitutives chez les Myxobactéries alors que leur production exige, dans les autres cas, la présence d'un inducteur qui n'est probablement pas la cellulose insoluble mais les fragments qui s'en détachent (cellobiose) ou même d'autres corps solubles possédant les mêmes liaisons β -glucosidiques (lactose, salicine).

On connaît des cas de répression de la synthèse des cellulases en présence de glucose, même à faible concentration, ce qui pourrait expliquer l'innocuité pour leur hôte de certains Champignons mycorrhiziens facultatifs et cellulolytiques. *In vitro*, l'activité cellulase peut être inhibée par la DL-asparagine ou l'extrait de Levure (BRAVERY, 1968).

6° Facteurs écologiques. — Les facteurs les plus importants semblent être le potentiel d'oxydo-réduction du sol, lui-même lié à sa structure et à son humidité, le pH, la température et la teneur en azote assimilable. Mais bien d'autres influences se font encore sentir qui ne sont pas toutes parfaitement définies. Il en résulte que, s'il n'y a pas de sol sans cellulolyse, cette dernière se produit à des vitesses et suivant des modalités extrêmement variées, d'un milieu à l'autre.

a) *Potentiel d'oxydo-réduction.* — Il conditionne, pour une large part, la nature de la microflore active : dès 1947, les expériences de POCHON et TCHAN sur colonnes de terre montraient de façon spectaculaire comment, pour des $rH \geq 19$, on pouvait rencontrer des Bactéries cellulolytiques aérobies alors que pour des $rH \leq 9,3$, seuls intervenaient les *Clostridium* anaérobies.

Quant aux Champignons, leur comportement est sans doute variable suivant les espèces, mais ils sont plus abondants dans les milieux de rH élevé.

De tout ceci résulte que la cellulolyse est plus active dans les horizons superficiels des sols, où la population est aussi plus variée, alors qu'en profondeur interviendraient surtout des organismes filamenteux (tableau XXIV). Elle est aussi ralentie dans les sols lourds ou saturés.

b) *pH.* — Les Bactéries anaérobies sont assez tolérantes vis-à-vis de l'acidité : en effet, si les valeurs optimales du pH se situent, en ce qui les concerne, vers 6,8-7,4, on en rencontre même dans des sols de pH 4,3 de sorte que leur répartition est sensiblement plus large que celle des Bactéries aérobies.

TABLEAU XXIV. — INFLUENCE DE LA PROFONDEUR ET DE LA MISE EN CULTURE
SUR L'ACTIVITÉ CELLULOLYTIQUE DE DEUX CHERNOZEMS
(d'après NAPLEKOVA, 1964)

TYPE DE SOL	Profondeur	NON CULTIVÉ				CULTIVÉ			
		Cellulose décomposée %	Bactéries	Champignons	Actino- mycètes	Cellulose décomposée %	Bactéries	Champignons	Actino- mycètes
Sol A Chernozem lessivé	0-20	48	6	5	7	91	10	9	11
	20-40	16	1	1	3	72	4	2	1
	40-60	0	2	3	3	34	3	3	4
Sol B Chernozem forestier	0-20	56	5	1	4	80	8	5	6
	20-40	55	5	2	2	72	4	1	2
	40-60	36	3	3	4	56	3	5	2
Bactéries, Champignons, Actinomycètes = nombre des espèces recensées.									

Après un apport de fumier, JENSEN (1931) voit se développer des populations différentes suivant les valeurs du pH du sol : à pH 6,5-7,0 des *Vibrio*, entre 5,7 et 6,2 des *Cytophaga* et, enfin, dans les milieux plus acides des Champignons.

Plus généralement, on peut admettre que le pH optimal se situe vers 6 à 7 pour les *Cellulomonas*, le minimum pour les *Cellvibrio* et les *Cytophaga* étant de 6,0 à 6,5. Les Myxobactéries semblent être les plus sensibles et se rencontrent surtout dans les litières des vergers et dans les mull calciques ou les sols cultivés convenablement amendés. Dans le mull acide ou le mor, elles sont moins nombreuses et les Bactéries vraies sont plus répandues (WENT et DE JONG, 1966).

Les Actinomycètes ont la réputation de préférer les milieux neutres, mais on peut en rencontrer dans des sols très divers entre pH 4,6 et 9,5.

Il n'y a pas non plus de règle générale concernant les Champignons : *Stachybotrys atra* est neutrophile, certains Basidiomycètes dégradant le complexe ligno-cellulosique sont acidiphiles et surtout de nombreuses espèces sont plus ou moins indifférentes.

Il faut rapprocher ceci du fait que les cellulases des divers micro-organismes ont aussi des pH optimaux différents : l'activité cellulasique est maximale à pH 3,5 dans le cas d'un Hyménomycète lignivore (*Poria*), entre pH 6,0 et 7,5 chez *Cellvibrio gilvus*, de 6,5 à 8,0 chez *Stachybotrys* (HALLIWELL, 1963).

En généralisant, on peut admettre que la cellulolyse est plus active dans les sols bien pourvus en bases et le pH exerce sûrement une profonde influence sur la composition de la microflore cellulolytique. Mais il ne faut pas oublier qu'aucun facteur pris isolément n'est déterminant : ainsi la cellulolyse peut être beaucoup plus active dans un mull acide que dans un mor de pH voisin (WENT et DE JONG, 1966).

c) *Température.* — La cellulolyse débiterait, dans la nature, au voisinage de $+5^{\circ}\text{C}$, et peut encore se produire à 65° . Dans ce dernier cas, elle est l'œuvre de micro-organismes thermophiles, pour la plupart des *Clostridium* anaérobies dont la croissance est faible au-dessous de 50° .

On considère encore comme thermophiles des Actinomycètes (*Streptomyces*, *Micromonospora*) et des Champignons des genres *Chaetomium* et *Humicola*. Mais, à vrai dire, il s'agit plutôt de mésophiles exigeants poussant encore à 20° (COONEY et EMERSON, 1964).

Les espèces thermophiles ne sont pas absentes des sols mais elles représentent une fraction réduite de leur population (1 % suivant les estimations de MISHUSTIN et VASILEVA) et on les rencontre surtout dans les fumiers, les composts chauds, les matières végétales en décomposition.

Les cellulolytiques du sol sont donc dans leur grande majorité des mésophiles, mais leurs exigences sont très variables suivant les espèces ou les races. Les *Clostridium* sont parmi les plus exigeants (optimum aux environs de $33-40^{\circ}$, activité ralentie au-dessous de 28°). Les autres Bactéries sont actives à partir de $15-20^{\circ}$ avec des valeurs optimales de $28-30^{\circ}$ ou même 35° ; les plus tolérantes vis-à-vis de la température sont peut-être les *Cytophaga*.

L'optimum pour la production des cellulases par les Bactéries se situe d'ailleurs à 30° (RIVIÈRE et ROUX, 1961).

d) *Humidité.* — L'humidité conditionne l'activité biologique globale des sols et, de la même manière, l'intensité de la cellulolyse. Dans les forêts, en Hollande, cette dernière est proportionnelle à la teneur en eau du sol et se trouve pratiquement suspendue quand le point de flétrissement est atteint. De même, suivant la règle, des humidités relativement basses inférieures à 50-60 % c.r. ou des alternances d'humidité et de sécheresse favorisent les formes filamenteuses, alors que les milieux riches en eau avantagent les organismes unicellulaires.

Ainsi, à 20 % c.r., SZEGI rencontre surtout des Actinomycètes, tandis qu'au Canada, une humidité relative de 70 % favorise les Champignons banaux et que les espèces plus nettement cellulolytiques se rencontrent à 60 % (MACIEOWSKA et WILLIAMS, 1963).

e) *Salinité.* — Son influence paraît faible et se trouve masquée, dans la nature, par celle d'autres facteurs et, en particulier, de l'aération et de la teneur en matière organique. Le cas des sols halomorphes a été étudié récemment par MITROFANOVA (1966) : dans les solontchaks-solonetz, partiellement lessivés, l'horizon A, contenant 0,46 % de sels, héberge essentiellement *Rhizophlyctis rosea* et un *Sorangium*, mais ceux-ci diminuent dans l'horizon B (0,86 % de sels) alors que dans l'horizon d'accumulation (3,46 % de sels) on rencontre seulement des Champignons (*Chaetomium* et *Gliobotrys*). Dans les autres sols (solonetz, sols noirs) l'horizon A renferme une microflore abondante et variée et l'horizon B est très pauvre en espèces actives. La mise en culture abaisse la salinité, améliore la structure, stimule l'activité biologique et accélère la cellulolyse.

Les actions combinées de ces différents facteurs permettent de penser que, dans les régions tempérées, la cellulolyse est assurée principalement par les Champignons filamenteux et les Actinomycètes dans la plupart des sols, surtout s'ils sont plus ou moins acides et bien aérés. Pour des valeurs plus élevées du pH, les Bactéries aérobies peuvent aussi entrer en action, en particulier dans les couches superficielles des sols cultivés. Mais il est bien évident que l'influence des différents facteurs écologiques varie suivant les régions : ainsi sous les climats continentaux, la température pourrait être un facteur plus important que le pH ou même l'humidité. Sur les débris de plantes fourragères, en URSS, les *Cellvibrio* sont dominants au printemps parce qu'ils supportent bien le froid ; au début de l'été, par contre, les Champignons sont dominants, suivis, plus tard, par les *Cytophaga*. Pour NAPLEKOVA (1964), dans l'Altai, les Bactéries sont dominantes en mai et août et les Actinomycètes, d'ailleurs peu abondants, sont mieux représentés en juillet.

Dans les régions chaudes, une humidité persistante favorise, parmi les Bactéries, les *Clostridium* mésophiles exigeants.

FACTEURS NUTRITIONNELS. — a) Sources de carbone. — On a considéré pendant longtemps que certaines Bactéries aérobies ou anaérobies étaient des cellulolytiques obligatoires, incapables d'utiliser les sucres simples et les oligosides. C'est un point de vue abandonné aujourd'hui, mais il n'en reste pas moins que divers *Cellvibrio* et *Cytophaga* montrent des exigences très étroites : on sait par exemple que *Cytophaga hutchinsonii* n'est cultivable, en dehors de la cellulose, que sur des milieux sucrés contenant glucose ou cellobiose stérilisés par filtration.

D'autre part, une espèce disposant à la fois d'oligosides et de cellulose consomme toujours les premiers de façon préférentielle et attaque seulement la seconde quand les sucres ont disparu du milieu et à condition que leur concentration n'ait pas été trop élevée au début de l'expérience. Peut-être faut-il se rappeler ici les phénomènes de répression enzymatique évoqués plus haut. Par contre, les alcools n'ont pas le même effet, bien que les polyols soient inhibiteurs *in vitro*. En outre, une très petite quantité de glucose peut être favorable, en culture pure, même dans le cas des Myxobactéries (RIVIÈRE et ROUX, 1961) et permettrait l'induction ou tout au moins la synthèse de cellulase chez les Champignons, accélérant ainsi le départ des cultures.

Les substances auxquelles la cellulose est associée dans les débris végétaux influent sur la vitesse de sa décomposition. On peut supposer que, dans les parois incrustées de lignine, les enzymes diffusent difficilement, ou encore que les polyphénols présents modifient l'activité de celles-ci. A cela s'ajoute, sans doute, un effet électif vis-à-vis de la microflore. En tout cas, les quelques études micromorphologiques dont nous disposons montrent, en général, une disparition rapide des parenchymes à réserves, des collenchymes, du liber, tandis que subsistent sclérenchymes et xylème (KONONOVA, 1961). Mais parfois les tissus cellulotiques sont aussi durables que ces derniers (BABEL, 1964), ou bien les tissus lignifiés disparaissent les premiers (HANDLEY, 1954 ; WARCUP, 1959) ; s'agit-il d'un phénomène de protection de la cellulose par quelque complexe tannant ou de l'intervention d'un organisme ligninolytique ? Les deux hypothèses ne peuvent être

rejetées ; la première est invoquée par HANDLEY pour expliquer la formation du mor, mais n'a pas été admise sans restriction et la seconde est suggérée par la présence d'Hyménomycètes dans le matériel étudié par WARCUP. De même, dans la tourbe, la cellulose est extrêmement résistante en raison de la présence, dans les parois cellulaires des Muscinées, de substances apparentées à la lignine, bien que moins polymérisées, semble-t-il. Suivant Kox (1954), les Champignons cellulolytiques les plus actifs qu'il ait isolés des tourbes (*Penicillium*, *Trichoderma*) n'attaquent pas la cellulose de Sphaigne qui est dégradée par les symbiontes des Ericacées.

Par contre, on admet généralement que la cellulose associée à des composés pectiques ou à des hémicelluloses est plus sensible aux attaques biologiques. Ainsi la cellulose des organes herbacés est plus rapidement détruite que de la cellulose pure, peut-être parce que les glucides secondaires présents autorisent le développement d'une microflore complexe, siège de phénomènes de synergie, ou susceptible secondairement d'assurer une cellulolyse accélérée. Nous signalerons plus loin le parallélisme existant entre hémicellulases et cellulases. D'ailleurs SEIFERT (1966), vient de montrer que, dans le bois, la dégradation de la cellulose marchait toujours de pair avec celle des pentosanes.

b) *Sources d'azote.* — La décomposition de la cellulose fournit aux micro-organismes des sucres qui, d'une part, sont dégradés avec libération d'énergie, d'autre part, sont assimilés et utilisés pour la synthèse des constituants des micro-organismes. Or, ces derniers sont beaucoup plus riches en azote que les végétaux supérieurs et surtout que leurs débris. Nous savons déjà que plus une plante avance en âge, plus elle s'enrichit en cellulose et s'appauvrit en N et le phénomène est encore accentué par le lessivage *post mortem* des constituants solubles.

Par exemple, la paille de Seigle contient 0,24 % d'N, de sorte que son C/N est voisin de 160. Les feuilles vertes de *Molinia coerulea* ont un C/N de l'ordre de 30, alors que celui-ci atteint 300 à la même époque dans les feuilles jaunies et mortes de cette même plante.

En regard de ces chiffres, les Bactéries contiennent en moyenne 15 % d'N avec des C/N de 4,8 à 6,5, parfois moins ; les Champignons, plus variables, ne renferment que 1,5 à 10 % d'N avec des C/N de 8,4 à 12,7, mais ces taux plus faibles sont compensés

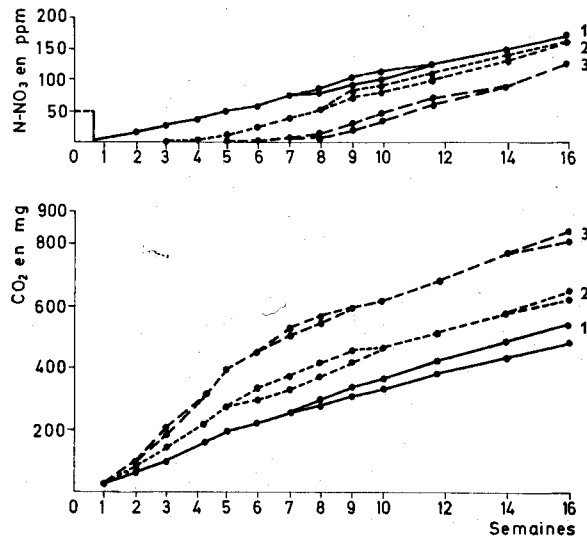
TABLEAU XXV. — DÉCOMPOSITION DE LA CELLULOSE EN MILIEU LIQUIDE
PAR « TRICHODERMA » (chiffres en mg de C)
(selon HEUKELEKIAN et WAKSMAN, 1925)

Durée (en jours)	Cellulose décomposée	CO ₂ dégagé	C, dans le filtrat	C assimilé	C assimilé N assimilé
17	128,4	71,4	11,6	41,8	23
24	242,5	136,4	10,4	95,7	30
31	319,2	165,8	11,7	141,7	32
38	326,8	182,8	9,2	134,8	31

par le fait que leurs biosynthèses sont supérieures à celles des Bactéries et que leurs cadavres sont probablement plus lents à se décomposer, du moins dans certains sols.

Aussi, même en tenant compte des quantités de carbone minéralisées (tableau XXV), existe-t-il un déficit en N, lors des apports de pailles ou de litière, déficit que la micro-flore tend à compenser en puisant dans les réserves du sol qui sont généralement faibles. Les cultures suivantes manifesteront des symptômes de carence et le cycle de l'azote se trouve ralenti (fig. 23).

FIG. 23. — Influence d'une addition de cellulose sur la nitrification nette dans un mull. Le taux de nitrates (courbe du haut) diminue d'autant plus que les doses apportées sont plus élevées, tandis que le dégagement de CO_2 (courbe du bas) va augmentant (TRIBE, 1960).



Selon JENSEN (1931), le rapport entre la cellulose décomposée et l'azote assimilé, en culture pure, varie entre 25 et 54 pour les Bactéries et les Champignons. On peut estimer, en moyenne, que la décomposition de 30 g de cellulose dont 20 à 30 % servent aux synthèses microbiennes, exige la fourniture de 1 g d'azote. Mais c'est là une évaluation grossière : les Bactéries anaérobies recourant à la fermentation et transformant par conséquent une partie du C disponible en déchets divers (alcools, acides, etc.) ont des besoins moins élevés. Les Champignons lignivores sont aptes à dégrader des quantités importantes de substance ligneuse (cellulose et lignine) dans les bois dont le C/N peut dépasser 300 (LEVI et coll., 1968). D'ailleurs, quand la cellulolyse est ralentie par la présence de substances incrustantes, comme la lignine — ou même par des températures ou des pH défavorables — les quantités d'azote nécessaires à la décomposition d'un poids donné de cellulose diminuent, peut-être parce que l'azote est peu à peu recyclé, ou bien grâce à des apports extérieurs.

Mais il faut encore tenir compte de la qualité des sources d'N. Dans le cas des *Cellvibrio* et des *Cellulomonas*, l'N organique entrave la cellulolyse et dans la nature un apport d'N- NO_3 favorise l'activité des Bactéries. Mais RIVIÈRE et ROUX (1961) constatent au contraire une meilleure utilisation des sources complexes d'N, en particulier des peptones, par les Myxobactéries et les *Cellvibrio*. De même les *Clostridium*

exigent pour croître *in vitro* l'apport d'une petite quantité de peptone. Enfin, bon nombre de Champignons utilisent mal, ou pas du tout, les nitrates et réclament de l' N-NH_4 ou même de l' N organique. Peut-être les fluctuations saisonnières de la microflore cellulolytique sont-elles en relation avec la dynamique de l' N soluble dans le sol (NAPLEKOVA, 1964). Enfin, HANDLEY (1961), a attribué le ralentissement de la cellulolyse dans le mor à l'indisponibilité de l' N des complexes tannin-protéines formés dans certaines litières, et les substances humiques sont de médiocres sources d' N (fig. 24).

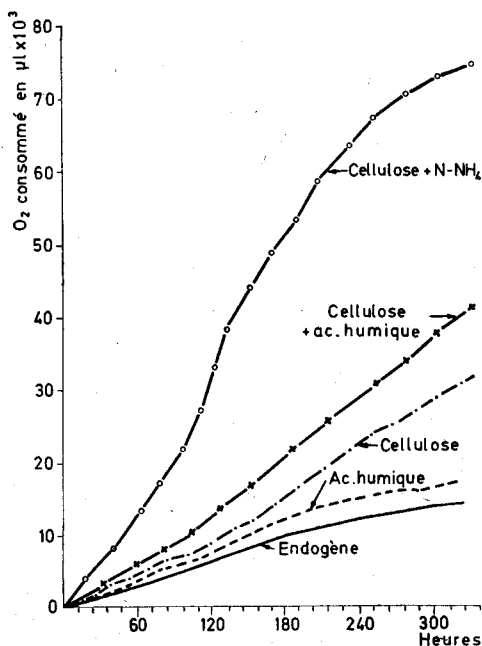


FIG. 24. — Influence d'une addition d' N-NH_4 ou d'acide humique sur la dégradation de la cellulose dans un sol de limon argileux (MILLER et SCHMIDT, 1963).

On voit comment, dans ces conditions, le rapport C/N des débris végétaux ne suffit pas à déterminer la rapidité de leur décomposition. Il est très difficile, *a priori*, de connaître quelles quantités d'azote doivent exister dans le sol ou lui être apportées pour assurer la minéralisation d'une masse donnée de matériel cellulosique, par exemple, de paille, en évitant l'apparition d'une carence en N chez les cultures portées par ce sol.

INFLUENCE DE LA VÉGÉTATION. — La composition du couvert végétal exerce une influence considérable sur l'activité de la cellulolyse et sur la composition de la microflore correspondante. WENT et DE JONG (1966) constatent que, dans un verger, des feuilles de cellophane sont décomposées en 4 semaines alors que, en forêt, elles disparaissent seulement après 20-40 semaines dans un mull calcaire et sont encore visibles après 1 an dans un mor. Dans le premier cas, des espèces fongiques très actives (*Fusarium* spp.) sont les formes dominantes et sont remplacées en forêt par *Trichoderma* accompagné d'espèces peu efficaces. On peut rapprocher ces faits de la

présence précoce des *Fusarium* sur les feuilles mortes de Pommier, de celle des *Chaetomium* sur les Graminées alors que ces espèces sont rares ou absentes sur les litières de Myrtille ou de Callune (MANGENOT, 1966c). De même, l'activité cellulolytique est plus intense, dans la zone des steppes, sous végétation herbacée que sous couvert forestier.

L'influence de la végétation apparaît encore au niveau de la rhizosphère où l'activité cellulolytique est modifiée ; il semble que, de façon assez générale, les Bactéries cellulolytiques aérobies y soient en nombre accru, alors que celui des anaérobies n'est pas modifié ou diminue. Mais les données de la littérature ne sont pas concordantes. De plus, certaines plantes sont inhibitrices, telles les *Allium*. Enfin, certains tannins inhibent sélectivement les Bactéries cellulolytiques.

Traitements du sol. — La mise en culture favorise l'activité cellulolytique et, en particulier, celle des Bactéries, de sorte que si l'on compare deux sols semblables, l'un demeuré vierge et l'autre cultivé, le second possède toujours une flore plus riche et plus variée. Mais cet effet stimulant est plus ou moins sensible suivant les caractères du sol (tableau XXIV).

Les fumures, surtout organiques, entraînent une diversification de la mycoflore cellulolytique (KANEVSKAJA, 1964) et favorisent des espèces différentes suivant les aliments apportés (JENSEN, 1931 ; GRIFFITHS et JONES, 1963). Il peut même arriver, sur sol riche, que lors d'un apport d'azote et de phosphore, l'influence de ce dernier soit prépondérante.

Mais les données dont nous disposons sont encore trop peu nombreuses pour que des règles générales s'en dégagent. Elles expliquent cependant que, dans un milieu donné, seul un nombre limité d'espèces trouvent les conditions optimales pour leur activité, conditions qui sont, en réalité, indispensables si l'on tient compte de l'intense compétition à laquelle elles se heurtent dans le sol.

INTERACTIONS AVEC LA MICROFLORE ET LA MICROFAUNE. — Nous ne reviendrons pas ici sur les associations, connues depuis longtemps, entre Champignons ou Bactéries cellulolytiques et *Azotobacter*. On comprend aisément que la fixation d'N atmosphérique soit favorable à la cellulolyse puisque celle-ci est souvent limitée par la quantité d'N disponible. Réciproquement, Champignons et Actinomycètes cellulolytiques produisent généralement, à partir de la cellulose, des intermédiaires solubles et assimilables que peuvent utiliser les *Azotobacter*. En outre, ils sécrètent des facteurs vitaminiques stimulant la croissance de ces Bactéries, mais aussi des substances inhibitrices (SZEGI et TIMAR, 1965).

Selon NAPLEKOVA (1966), les cellulolytiques vivraient en association avec des Bactéries solubilisant les phosphates et pourraient ainsi travailler même dans des sols pauvres en P assimilable et sans fumure P.

Les interactions des cellulolytiques entre eux sont encore imparfaitement connues. On a signalé des faits de compétition entre *Cellvibrio* et Champignons (HENIS et coll., 1961) et TRIBE (1966) a décrit sur cellophane une série de phénomènes allant de la synergie au mycoparasitisme.

Quant aux actions de la microflore banale, elles sont diversement appréciées : pour certains auteurs, les populations naturelles complexes sont plus actives ; pour d'autres, c'est l'inverse, peut-être en raison de phénomènes de fongistase.

Le problème le plus intéressant, peut-être, est celui des associations, encore bien mal connues, mais d'une extrême importance qui peuvent se nouer entre microflore cellulolytique et mésofaune. Nous en parlerons ailleurs. Il faut signaler toutefois ici que la faune peut exercer une action stimulante ou inhibitrice suivant la nature des micro-organismes. Ainsi, l'action des Collembolles renforce celle de *Sporocytophaga*, mais diminue celle du Champignon *Acremoniella atra* que l'Insecte consomme ; enfin, dans le cas d'une population mixte, le rôle de l'animal est nul ou stimulant suivant que l'activité de la microflore est plus ou moins élevée (VON TÖRNE, 1966) (fig. 25).

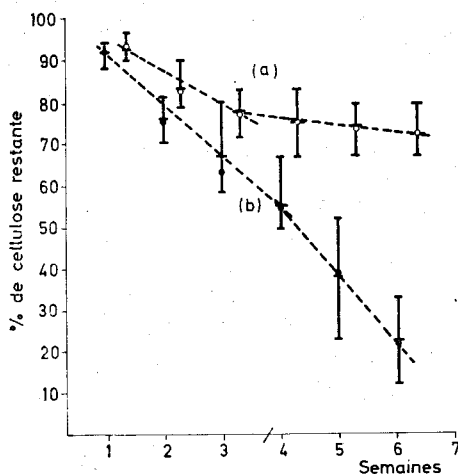


FIG. 25. — Décomposition de la cellulose par une culture pure de *Sporocytophaga myxococcoides* (a) ou associée (b) à un élevage de *Folsomia candida* (VON TÖRNE, 1966).

CONCLUSION. — La cellulose est considérée comme une fraction résistante des débris végétaux. Cependant, la microflore cellulolytique est suffisamment diverse pour qu'elle puisse travailler dans la nature, quelles que soient les conditions du milieu : sols acides ou alcalins ou salés, litières, composts, vases, etc.

Mais l'intensité du phénomène, ses modalités, la nature des produits finals varient suivant les stations.

Lorsqu'on dépose à la surface d'un sol des feuilles de cellophane ou de papier filtre, on constate que ces pièges subissent des sorts divers : sur certains sols calcaires, riches en Lombrics, le papier disparaît entièrement en quelques jours et la cellulose se trouve ainsi incorporée au sol. Ailleurs apparaissent d'abord des Champignons extensifs, discrets et peu apparents ou des Actinomycètes en colonies denses. C'est le cas, en particulier, pour la cellophane dans les sols forestiers. Ailleurs encore, par exemple dans les sols cultivés, ce sont des taches colorées, humides, déprimées, dues à des Bactéries qui sont les premiers indices d'attaque.

Ensuite, mais plus ou moins vite, interviennent les représentants de la faune du sol, attirés par la microflore : Collemboles, Acariens, Enchytraeides, ou attaquant directement la cellulose comme certains Gastéropodes. Les uns dilacèrent le matériel, les autres le percent de trous en sorte que, finalement, le piège cellulosique disparaît.

En leur absence, la décomposition demeure en général incomplète et pourtant il arrive que, après un temps plus ou moins long, apparaissent des associations bactériennes d'une extrême activité (*Sorangium* et *Sporocytophaga*, selon IMSHENETSKY, 1959) qui transforment le papier en quelques jours en une masse mucilagineuse inorganisée.

b) **Glucides secondaires.** — On réunit dans ce groupe un ensemble imparfaitement connu de composés formés d'une chaîne principale polysidique, plus ou moins longue, constituée, en général, d'une seule et même unité élémentaire, souvent un pentose, parfois un hexose. Ceci permet de définir des *pentosanes* (xylanes, arabanes) et des *hexosanes* (mannanes, glucanes, galactanes) formés respectivement de chaînes de xylose, arabinose, mannose, etc., unis par des liaisons diverses (1-3, 1-4, 1-5 ou 1-6). Mais ces chaînes portent, en général, des ramifications plus ou moins nombreuses dont chacune est formée d'une unité différente de celle qui constitue la chaîne elle-même et qui peuvent être des oses, parfois méthylés, ou bien des acides uroniques. Par exemple, les xylanes sont constitués de chaînes simples ou une fois ramifiées comprenant 30 à 100 unités de β -D-xylopyranose, unies en 1-4 et portant ou non des maillons latéraux formés chacun d'une unité arabinose ou acide glucuronique fixée sur le carbone 3 du xylose.

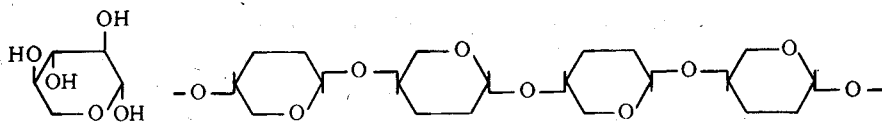
Enfin, il existe des hexosanes mixtes. Ainsi dans le bois des Angiospermes, on obtient surtout un glucuronoxylane avec un peu de glucomannane ; chez les Conifères, ce dernier est le plus abondant et accompagné d'un peu de glucurono-arabinoxylane. Cet ensemble hétérogène constitue ce que l'on appelle communément les *hémicelluloses*.

Cependant, on tend aujourd'hui à classer les galactanes et les arabanes dans le groupe des composés pectiques.

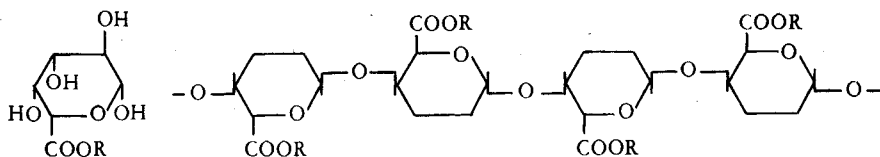
Dans la conception classique, les *composés pectiques* se distinguent des hémicelluloses par leur grande richesse en acide galacturonique et la présence de groupements COOH nombreux qui leur confèrent des propriétés spéciales : possibilité de complexer les cations (Ca^{++} , Mg^{++}), de former des esters méthyliques, de constituer des gels.

1° **Les hémicelluloses.** — Les analyses de matériels végétaux montrent que ces substances peuvent constituer une fraction importante de la matière sèche des pailles, des litières, des Mousses, etc. Ainsi, les xylanes, qui sont d'ailleurs les glucides secondaires les plus abondants dans la nature, représenteraient 15 à 30 % des pailles, 20 à 25 % des bois des Dicotylédones et 7 à 12 % seulement de ceux des Conifères.

Nous savons que le terme hémicellulose désigne un ensemble hétérogène de substances variables suivant les espèces et les variétés, pas toujours bien définies chimiquement, et dont l'analyse précise est très difficile. Aussi, trop souvent, l'étude de leur décomposition dans la nature repose sur des méthodes de dosage assez grossières :

 β -D.Xylopyranose

Xylane

Acide galacturonique $R=H$
Méthylgalacturonate $R=CH_3$

Ac. polygalacturonique

certains les assimilent à la fraction facilement hydrolysable de la matière végétale, d'autres se contentent de doser les pentosanes par le dégagement de furfural qui peut cependant avoir d'autres origines.

Dans ces conditions, on constate que le taux des hémicelluloses diminue rapidement dans les débris végétaux apportés au sol, mais tantôt plus vite que celui de la cellulose, tantôt plus lentement. Ainsi, en trois mois (SCHOBINGER, 1958), dans le cas d'une paille enssemencée par une suspension de sol, 95 % de l'holocellulose (hémicelluloses + cellulose) sont détruits, alors que, pour la cellulose seule, les pertes atteignent 96 à 98 %. Il semble exister une première période de décomposition très active suivie d'un net ralentissement. Si, par exemple, 60 % des pentosanes sont décomposés en deux mois, il faut quatre ans pour qu'ils le soient entièrement. Ainsi, le taux des hémicelluloses tend à se stabiliser, dans les conditions naturelles, et il peut même arriver que, plus tard, il s'élève à nouveau quelque peu, de sorte que, dans les sols organiques, il s'établit vers 10 à 15 %.

Ces faits peuvent trouver deux explications qui, d'ailleurs, ne s'excluent pas.

— Les différentes substances classées parmi les hémicelluloses sont inégalement labiles : les xylanes et les mannanes sont fragiles et disparaissent les premiers alors que les galactanes semblent plus résistants. De plus, même *in vitro*, la décomposition de xylane purifié devient extrêmement lente après quelque temps (SØRENSEN, 1957).

— En même temps que les hémicelluloses des débris végétaux sont dégradées, la microflore synthétise d'autres substances appartenant à la même catégorie : glucanes et pentosanes des membranes squelettiques des Champignons filamenteux, mannanes des Levures, glucanes et lévanes des capsules bactériennes, polyuronides des gélées cytophagiques. Il faut rapprocher de ces indications l'enrichissement en acides uroniques que certains auteurs ont observé dans le sol ; mais, à dire vrai, le dosage des acides uroniques dans un matériel complexe est aléatoire (DEUEL et coll., 1960).

a) *Espèces responsables.* — On en rencontre dans tous les groupes systématiques : Bactéries anaérobies (*Clostridium*) ou aérobies (*Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Bacillus*, *Vibrio*, *Sporocytophaga*), Actinomycètes (*Streptomyces*, *Micromonospora*), Champignons filamenteux (Mucorinées, *Chaetomium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, Hyménomycètes).

Cette liste, sûrement très incomplète, montre que l'activité hémicellulolytique est plus largement répandue que l'activité cellulolytique puisque, à côté d'espèces actives sur la cellulose ou la cellulose et la lignine, on rencontre des espèces glucophiles : il n'y a pas de microflore spécialisée dans la dégradation des hémicelluloses.

b) *Mode d'action.* — Suivant la règle, la grosse molécule des hémicelluloses doit être fragmentée en unités plus petites et solubles sous l'action d'enzymes hydrolysantes que l'on appelle des xylanases, mannanases, glucanases, etc., suivant la nature de leur substrat.

La *xylanase* est la mieux connue grâce au travail de SØRENSEN (1957) et nous savons maintenant qu'elle attaque les chaînes au hasard en donnant du xylose (par rupture de bouts de chaînes) et des oligosides à 2-6 unités xylose. De plus, si la molécule comprenait des maillons latéraux, apparaissent de l'arabinose et de l'acide glucuronique. Le système *xylanase* apparaît donc capable de rompre les liaisons 1-4 et 1-3, et il peut être séparé par électrophorèse en deux ou trois fractions. Mais, toujours suivant la règle que nous avons déjà reconnue en parlant de l'amidon ou de la cellulose, cette polyosidase ne fragmente pas le xylobiose qui est dédoublé par une autre enzyme, non diffusible celle-là.

Les produits finals de l'attaque par la *xylanase* sont xylose, xylobiose et maillons latéraux.

Les *xylanases* et probablement aussi les autres hémicellulases sont élaborées constitutivement par les micro-organismes actifs ; cependant, on peut les considérer comme inductibles parce que leur synthèse est très accrue en présence de leur propre substrat. Mais elle l'est aussi en présence de carboxyméthylcellulose (CMC) comme l'ont montré SØRENSEN pour la *xylanase* et VAN PARIJS (1961) pour la mannanase. De plus, les cellulases de *Myrothecium* ou de *Stachybotrys* hydrolysent le xylane et les filtrats de culture de *Sporocytophaga myxococcoides* en font autant, bien que cette Bactérie n'utilise pas le xylose ni le xylobiose.

Il est donc légitime de penser que certaines cellulases du complexe C_x possèdent une spécificité assez large pour hydrolyser plusieurs polyosides de configuration semblable β -1-4. Mais, inversement, un organisme peut produire des hémicellulases et n'être pas capable d'attaquer la cellulose, ce qui explique pourquoi la répartition de l'activité hémicellulolytique est plus vaste.

Cependant, même ici, apparaît encore une certaine spécificité se traduisant par une attaque plus ou moins rapide des différents polymères par les différentes espèces : ainsi *Trichoderma* décompose plus vite le xylane que le mannane alors que c'est l'inverse pour *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*.

Les *glucanases*, autres que la cellulase, ont été relativement peu étudiées bien que leur rôle puisse être important dans la lyse des mycéliums du sol (SKUJINS et coll., 1965). JONES et WEBLEY (1968) ont préparé des pièges de kaolin additionné de parois de divers Champignons et les ont introduits dans le sol. Ils ont constaté ainsi la formation de glucanase et ont pu isoler de ces pièges des micro-organismes variés, mais seuls un *Gliocladium* et divers *Streptomyces* ont été identifiés et leurs activités vérifiées. Les hyphes fuligineuses sont protégées contre la dégradation, et les pièges renfermant des parois de *Mucor* n'ont pas d'activité glucanase probablement parce que la composition chimique de ce matériel est différente.

c) *Facteurs externes.* — L'hémicellulolyse se déroule, en général, parallèlement à la cellulolyse, bien que parfois à des vitesses différentes et les mêmes facteurs exercent des effets semblables sur les deux phénomènes.

Il nous suffira donc de les rappeler rapidement : la décomposition des hémicelluloses est ralentie en anaérobiose ; les Champignons jouent le rôle principal en milieu acide et travaillent concurremment avec les Bactéries dans les sols neutres ; enfin, on connaît des micro-organismes hémicellulolytiques thermophiles.

Tout ceci est en accord avec ce que l'on sait des conditions d'action des xylanases :

- faible activité non inductible de *Clostridium* ;
- pH optimal de 6,0-6,5 pour *Penicillium*, *Chaetomium*, les Actinomycètes et *Clostridium* ; de 7,0 pour *Cellvibrio* ;
- température optimale de 37° avec tendance thermophile des Actinomycètes qui préfèrent 45-50°.

Comme dans le cas de la cellulose, la décomposition des hémicelluloses est sous la dépendance d'une teneur suffisante en N : dans les pailles de Seigle enrichies en N et sels minéraux, les hémicelluloses sont décomposées cinq fois plus vite que dans le même produit non enrichi.

A cela s'ajoute l'influence de l'âge de la plante ou de ses organes : dans le cas de tissus jeunes, l'attaque est sensiblement plus rapide que dans le cas d'organes vieillissants, soit parce que la nature des hémicelluloses se modifie avec l'âge, soit parce que leur état physique se transforme ou que des liaisons s'établissent avec d'autres constituants des parois. Ainsi, dans le cas des bois, les pentosanes libres sont attaqués les premiers, puis la dégradation des hémicelluloses progresse parallèlement à celle de la cellulose, quel que soit le type de pourriture.

Tous les sols possèdent une activité xylanase, mais celle-ci est plus ou moins élevée suivant la nature de la végétation et suivant les traitements dont ils sont l'objet. Ainsi, elle est maximale dans les sols recevant une fumure organique, moindre si on leur fournit seulement des engrais minéraux et minimale dans les parcelles non fumées de sorte que ses variations sont parallèles à celles du taux de matière organique. Les Graminées étant riches en xylane, les terres à Blé présentent une activité xylanase intense, ainsi que celles recevant des pailles, mais les apports de matériel cellulosique peuvent avoir aussi un certain effet inducteur.

CONCLUSION. — Nous sommes encore bien imparfaitement renseignés sur la décomposition des hémicelluloses dans les sols. Seul, le cas des pentosanes est relativement connu. Sous cette réserve, on peut dire que la dégradation des hémicelluloses présente de grandes analogies avec la cellulolyse et que, dans l'ensemble, les deux phénomènes se déroulent simultanément dans la nature, et à des vitesses relatives proportionnelles aux taux initiaux des deux catégories de substances dans le matériel végétal. Il n'en reste pas moins que les aptitudes hémicellulolytiques sont plus largement répandues chez les micro-organismes que les aptitudes cellulolytiques.

2° **Les composés pectiques.** — Ils sont moins abondants que les hémicelluloses, leur teneur moyenne pouvant être évaluée à 7 % ; mais certains matériels en renferment jusqu'à 20 %, les Graminées parfois 1 % seulement, alors que leur présence dans le bois a été longtemps discutée.

C'est une famille plus homogène que la précédente, comprenant des polymères α -1-4 de l'acide D. galacturonique associé à une certaine proportion de pentoses et d'hexoses.

Dans les *acides pectiques*, les groupements, —COOH sont libres et peuvent s'unir d'une chaîne à l'autre par l'intermédiaire de cations bivalents (Ca^{++} ou Mg^{++}) pour former des gels de pectates. Dans les *pectines*, ils sont, en majorité, estérifiés par le méthanol (p. 124).

La dégradation enzymatique des composés pectiques est surtout connue grâce à des travaux d'ordre phytopathologique. On peut distinguer deux types principaux d'action : d'une part les pectine-méthylestérases (PME) décomposent la pectine en acide pectique et méthanol, de sorte que le substrat s'acidifie, sans fragmentation des chaînes.

D'autre part une grande diversité d'enzymes (BATEMAN et MILLAR, 1966) hydrolysent les chaînes d'acide pectique ou de pectine (polygalacturonases, polyméthylgalacturonases) ou bien les fragmentent par transfert de protons (pectine transéliminases). Sous leur action, le substrat se fluidifie tandis qu'apparaissent des chaînes courtes et des unités galacturonyle.

On qualifie de pectinolytiques les organismes exerçant l'une ou l'autre de ces actions sur les composés pectiques. Ils ont surtout été étudiés en relation avec le rouissage des fibres textiles. Comme dans le cas des hémicelluloses, ce ne sont pas des espèces spécialisées, mais des saprophytes polyphages — ou des parasites — : on y rencontre des Bactéries anaérobies ou aérobies (*Bacillus*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*), des *Streptomyces* et *Nocardia*, quelques Levures et un grand nombre de Champignons filamenteux (*Botrytis cinerea*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, etc.). Quant à *Aureobasidium* (= *Pullularia*) *pullulans*, c'est un habitant de la phyllosphère, surtout des plantes ligneuses, qui paraît être un des premiers colonisateurs des feuilles mortes ; il disparaît très vite en présence de la microflore du sol, mais il nous intéresse parce qu'il paraît initier une succession entrevue par SMIT et WIERINGA (1953).

Si l'on considère la population des sols, celle-ci apparaît relativement pauvre en espèces pectinolytiques : dans le cas des Bactéries, 1/50 de la population totale. Les formes actives sont plus répandues parmi les Actinomycètes qui peuvent constituer les 9/10 des espèces pectinolytiques dans les sols calcaires de grande culture. Mais ce

sont les Champignons qui paraissent occuper la place prépondérante dans la plupart des cas (KAISER, 1961).

Facteurs externes. — La dégradation de la pectine est plus ou moins active dans tous les sols et les facteurs externes contribuent surtout à déterminer la nature de ses agents. On retrouve ici les règles classiques sur lesquelles il n'est pas besoin d'insister longuement.

— Les Bactéries anaérobies (*Clostridium*) sont peu nombreuses dans les litières et les sols normalement drainés, plus abondantes dans les sols hydromorphes, les marécages, mais aussi dans les terreaux et les sols fortement fumés (jardins, sols maraîchers). Cependant, leur nombre est presque toujours nettement inférieur à celui des micro-organismes aérobies.

— Aux valeurs inférieures du pH, l'activité biologique générale est faible et la pectinolyse paraît surtout fongique. Au-dessus de pH 5,5, et surtout dans les sols neutres (sols bruns calcaires, rendzines), les Actinomycètes sont dominants et les Bactéries aérobies (*Bacillus* notamment) nombreuses.

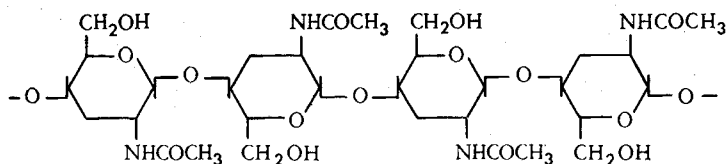
— La richesse en matière organique stimule l'ensemble de la microflore pectinolytique, mais les Actinomycètes sont rares dans les litières.

CONCLUSION. — Les composés pectiques sont des substances fragiles dont la décomposition est en partie assurée avant même l'incorporation au sol par les premiers colonisateurs des débris végétaux : parasites, agents de pourriture tels que les *Erwinia*, organismes épiphytes, par exemple *Aureobasidium pullulans*.

Cependant, de nombreux facteurs peuvent modifier le comportement de ces composés : ainsi, les pectines fortement méthylées sont plus résistantes ; de même leur association avec d'autres constituants des parois peut les protéger, par exemple, les composés pectiques des Sphaignes ne sont pas attaqués tant qu'ils sont associés à la cellulose (Kox, 1954). Enfin, on sait que, dans les tissus nécrosés, les polyphénols ou leurs produits d'oxydation peuvent inactiver les enzymes pectinolytiques.

c) **La chitine.** — Elle est incorporée au sol avec les cadavres de certains animaux et, en particulier, des Arthropodes, dont elle constitue l'exosquelette, mais elle provient aussi des mycéliums des Champignons dont les parois en contiennent souvent mais, à vrai dire, en quantités très inégales.

1° **La chitine présente certaines analogies structurales avec la cellulose** : en effet elle est constituée aussi de longues chaînes groupées en mailles cristallines, mais dont l'unité fondamentale n'est plus le glucose ; c'est un amino-sucre, la N-acétyl β -glucosamine, de sorte que la chitine n'est pas un polyside, mais un mucopolyside, riche en N dont il contient, à l'état pur, 6,9 %.



Chitine

La chitine est associée dans les matériaux naturels à d'autres substances, par exemple des protéines et des mélanines dans l'exosquelette des Insectes. Elle peut aussi être accompagnée d'autres mucopolysides moins bien connus, comme le chitosane, moins acétylé que la chitine, ou la polygalactosamine. Enfin, sa structure cristalline n'est pas uniforme : la chitine de Seiche est d'un type différent de celle des Insectes.

On comprend que les comportements des chitines dans les sols soient donc eux aussi fort variés. La chitine d'Insecte associée à des mélanines est plus résistante que celle de Seiche, mais sa purification la rend plus labile.

En tout cas, la décomposition de la chitine se pose dans des termes bien différents de ceux que nous avons envisagés en parlant de la cellulose. Cette dernière est relativement résistante et sa dégradation est consommatrice d'N ; la chitine, du fait de son C/N bas, est une source d'N qui disparaît plus ou moins vite avec libération d'ammoniac.

2° Organismes responsables. — On a souvent dit que les Actinomycètes étaient les principaux agents de dégradation de la chitine, mais il est probable que la microflore active est plus variée et comprend des représentants de tous les principaux groupes systématiques :

- des Bactéries : *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, cocci ;
- des Myxobactéries : *Cytophaga* ;
- la plupart des Actinomycètes du sol ;
- des Champignons : moisissures banales comme *Trichoderma*, *Penicillium*, *Fusarium*, etc. ; des Mucorales, alors que celles-ci sont généralement inactives sur la cellulose ; des Ascomycètes et Basidiomycètes, mais les Eumycètes ne sont jamais dominants.

Cette flore n'est pas spécialisée en ce sens qu'il s'agit d'espèces polyphages et cependant tous les micro-organismes ne sont pas aptes à dégrader la chitine.

Aussi des apports volontaires de cette substance favorisent-ils le développement d'espèces chitinolytiques qui pourraient être responsables de certains phénomènes de mycolyse (MITCHELL, 1963a), par exemple *Bacillus cereus* ou des *Streptomyces* (cf. p. 693).

Comme dans le cas de la cellulose, toute espèce croissant sur les pièges de chitine n'est cependant pas pour autant capable de fragmenter les chaînes mucopolysidiques. Peut-être même certaines d'entre elles utilisent-elles seulement les chaînes latérales acétyle.

Enfin, on connaît des associations synergiques : OKAFOR (1967) cite le cas d'un *Cytophaga* et d'un *Arthrobacter* qui n'ont pas d'action en culture pure et solubilisent la chitine lorsqu'ils croissent ensemble. Par contre, l'association *Bacillus*+*Arthrobacter* est sans effet.

3° Mécanismes de dégradation. — Les chitinases sont des systèmes enzymatiques complexes et généralement inductibles, hormis le cas de certains *Streptomyces* chez lesquels elles seraient constitutives. Comme les systèmes que nous avons étudiés jusqu'ici, la chitinase fragmente les longues chaînes d'amino-sucre en donnant finalement un dimère, le diacétyle-chitobiose. Celui-ci est clivé à son tour par une chitobiase en deux molécules d'acétyle-glucosamine. En même temps, des désacétylations sont possibles et

les produits terminaux de la dégradation de la chitine, sous l'action du complexe enzymatique, comprennent acétyl-glucosamine, glucosamine et acide acétique, glucose et ammoniac.

4° Facteurs externes. — La décomposition anaérobie de la chitine est fort peu connue : elle est sans doute l'œuvre de Bactéries qui, selon ALESHINA (1938), pourraient être sulfato-réductrices.

L'influence de la température a été récemment soulignée par OKAFOR (1966). En étudiant la succession des micro-organismes sur des feuilles de chitine placées dans le sol, il a montré que les Actinomycètes étaient favorisés par des températures élevées (29 °C) au point de devenir apparemment dominants si les isoléments sont effectués dans une étuve. Ils sont accompagnés par la suite de mycéliums grêles non septés (Phycomycètes ?), de gros bacilles, de Protozoaires et de Nématodes. A +10 °C, dans les sols tempérés, on rencontre d'abord des mycéliums d'Eumycètes — donc cloisonnés — puis, par la suite, des bacilles courts, peut-être des *Beneckeia*, accompagnés de Myxobactéries (fig. 26).

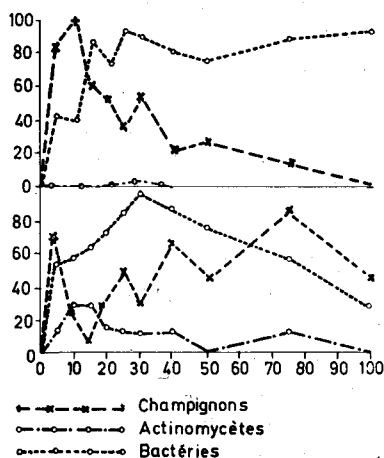


FIG. 26. — Répartition des micro-organismes sur des feuilles de chitine après incubation dans le sol (OKAFOR, 1967). (En abscisse, durée en jours ; en ordonnée, pourcentage de fréquence relative. En haut, à +10 °C ; en bas, à +29 °C).

CONCLUSION. — Nos connaissances touchant la dégradation de la chitine sont encore bien limitées, et l'on peut dire seulement que de nombreux micro-organismes du sol sont capables de l'utiliser, soit comme source de C, soit comme aliment azoté, ou bien les deux à la fois. Dans les sols, Bactéries, Actinomycètes et Champignons interviennent aussi bien sous les tropiques que dans les régions tempérées (GRAY et BELL, 1963), l'un ou l'autre de ces groupes prévalant suivant les conditions du milieu. En Hollande, les propagules des Actinomycètes semblent les plus nombreuses de sorte que le rôle de ces organismes est probablement important au moins pendant les périodes chaudes. Selon GRAY et BAXBY (1968), les Bactéries et Actinomycètes sont prépondérants dans un bois de Pin sur sol basique où quelques Champignons les accompagnent tandis que d'autres espèces fongiques colonisent les sols acides.

Enfin, la chitine peut être dégradée dans le tube digestif de certains animaux du sol (Collemboles, Lombrics) grâce, peut-être, à la microflore qu'ils hébergent dans leur intestin.

REMARQUE. — Avant d'en finir avec les *mucopolyosides*, il faut signaler que l'on connaît avec précision de nombreuses enzymes bactériolytiques susceptibles de dégrader le peptido-glucane de la paroi bactérienne (STROMINGER et GHUYSEN, 1967). Elles jouent probablement un rôle important dans l'établissement de l'équilibre biologique du sol, par exemple en éliminant les individus morts et peut-être aussi en favorisant les actions concurrentielles des espèces qui les produisent, mais, en ce domaine, nous en sommes réduits aux conjectures.

II. — LES SUBSTANCES AROMATIQUES

Si l'on excepte la lignine et les substances humiques, le devenir des composés aromatiques dans le sol a peu retenu l'attention : les études sont rares, les substances d'une surprenante diversité et les mécanismes biochimiques de leur dégradation guère moins variés. Pourtant, ces mécanismes sont relativement bien connus grâce à de nombreux travaux effectués sur des cultures pures : leurs résultats sont fort intéressants et nous aurons besoin de les connaître pour comprendre la décomposition de la lignine, mais ils ne nous renseignent pas immédiatement sur ce que deviennent les substances aromatiques dans la nature.

Le sol reçoit des quantités appréciables de composés aromatiques apportés de l'extérieur par la végétation ou synthétisés dans l'écosystème édaphique par sa microflore, en particulier les Champignons filamenteux. Pourtant, il renferme fort peu de dérivés phénoliques libres.

Par exemple, les feuilles d'*Anthoxanthum odoratum*, la Flouve, contiennent environ 4 % de coumarine dans leur matière sèche totale. Si l'on s'en rapporte aux données de BRUCKERT et ses collaborateurs (1967), une litière de Chêne contient environ 330 ppm d'acides-phénols courants alors que les sols forestiers les plus riches, les podzols, en renferment moins de 1 ppm.

Il est vrai que la transformation des phénols des feuilles commence au sein des litières : le vieillissement de celles-ci, indépendamment de tout lessivage, réduit leur taux, dans les feuilles de Chêne, à 25-30 % de leur teneur initiale, dans celles de Hêtre, à moins de 10 %, et ceci en quelques semaines seulement (KING et BLOOMFIELD, 1968).

1° Nature des composés aromatiques

Les composés aromatiques ne sont généralement pas libres dans la plante, mais sous forme d'hétérosides dont l'aglycone est varié ; tantôt celui-ci comporte un seul noyau benzénique : c'est le cas de certains phénols, d'acides-phénols à molécule en C₆-C₁

(acides benzoïques) ou en C_6-C_3 (acides cinnamiques et coumarines). Souvent aussi, l'aglycone est un flavonoïde comprenant deux noyaux benzéniques reliés entre eux par une chaîne en C_3 ou un hétérocycle oxygéné ($C_6-C_3-C_6$) : flavones, chalcones, anthocyanes, etc.

Outre les hétérosides, on rencontre des composés phénoliques condensés : les lignines, les tannins et, dans le sol, les substances humiques.

Il faut ajouter que les micro-organismes élaborent eux aussi des phénols simples ou condensés analogues à ceux des végétaux supérieurs et, en outre, des composés originaux, parmi lesquels on citera des pigments de structures très variées et certains antibiotiques.

2° Métabolisme des phénols

Le noyau benzénique est une structure remarquablement stable et pourtant les diphénols sont des substances fragiles facilement oxydables suivant deux sortes de modalités :

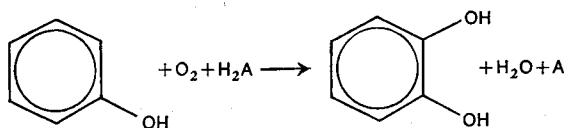
- ou bien l'oxydation conduit à une ouverture du cycle donnant naissance à des acides aliphatiques utilisables dans le cycle tricarboxylique ;
- ou bien l'oxydation est incomplète et aboutit à une condensation avec formation de substances colorées.

Les diphénols sont sujets directement à ces transformations ; les autres composés doivent être amenés d'abord à l'état de diphénols.

Les enzymes intervenant dans le métabolisme des phénols sont des oxygénases catalysant la fixation de l'oxygène sur le substrat ou bien des oxydases transférant à l'oxygène les électrons arrachés au substrat, avec formation d'eau.

a) *Etapes préliminaires.* — Les oxygénases sont de deux types : les mono-oxygénases, encore appelées parfois hydroxylases, fixent un des deux atomes d'une molécule d'oxygène sur le substrat et réduisent le second à l'état d'eau en même temps qu'un cofacteur (souvent NAD ou NADP) est oxydé.

Leur action fait ainsi apparaître sur le cycle benzénique une fonction phénol, transformant ainsi les monophénols en diphénols. Cette dernière réaction peut aussi être catalysée par certaines oxydases comme la tyrosinase qui transforme la tyrosine en DOPA avant d'oxyder celle-ci.

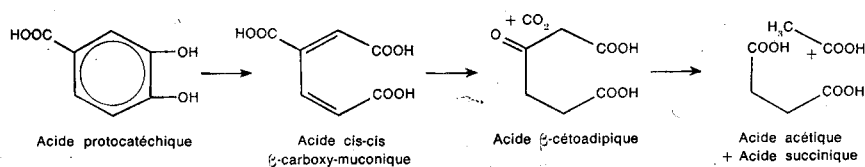


L'apparition d'une fonction phénol peut encore résulter de l'hydrolyse d'un groupe-méthoxyle ($-\text{OCH}_3 \rightarrow -\text{OH}$)

D'autre part, les composés possédant une chaîne latérale en C_3 perdent souvent celle-ci en donnant un acide phénol en C_6-C_1 .

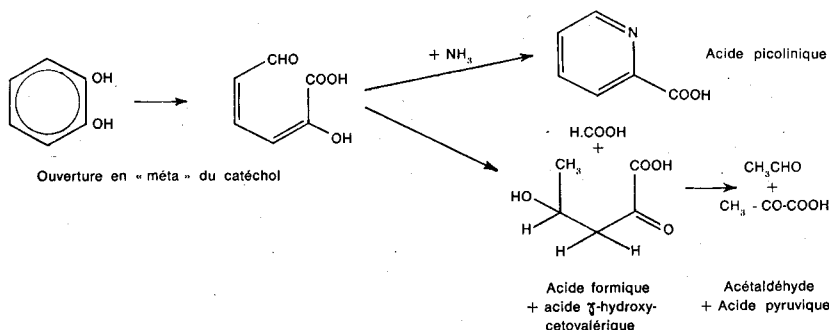
La dégradation des flavonoïdes en $C_6-C_3-C_6$ est moins bien connue. Ce sont des corps assez résistants à la biodégradation. NOGUCHI (1963) a montré que *Pullularia fermentans* attaquait seulement huit composés sur les vingt-deux étudiés. Seuls des hétérosides sont attaqués ou bien les aglycones correspondants à condition que le milieu renferme certains sucres ou certaines bases azotées. On obtient finalement des acides phénols ou des polyphénols, mais, dans certains cas, on voit aussi apparaître des substances brunes non identifiées.

Au total, les composés aromatiques simples quelle qu'en soit la structure initiale, sont amenés à l'état de diphénols, souvent d'orthodiphénols (catéchols, acide protocatéchique).

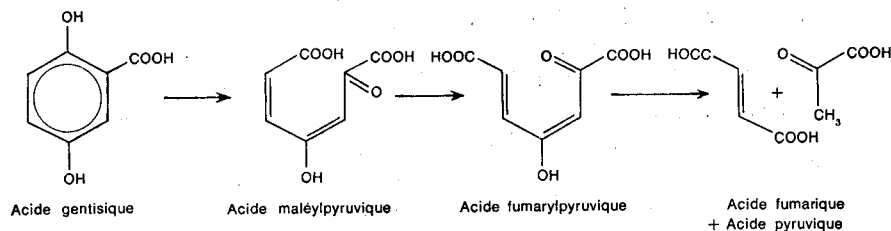


Ouverture en « ortho » de l'acide protocatéchique

A



B



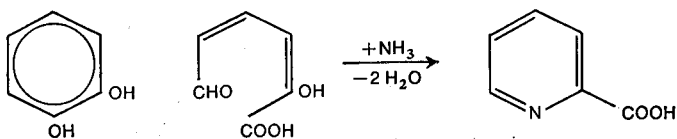
C

FIG. 27. — Quelques modalités d'ouverture du noyau benzénique (d'après DAGLEY, 1967).

b) **L'ouverture du cycle** est assurée par des dioxygénases qui fixent les deux atomes d'une molécule d'oxygène sur une molécule de substrat. La coupure peut se faire entre les deux fonctions phénols (*o*-diphénols) et l'on parle de coupure en « ortho » ou bien elle peut se faire entre une des fonctions phénols et l'atome de carbone voisin (coupure en « méta »).

La figure 27 montre quelques-unes des hypothèses possibles ainsi que les produits finals : acide acétique ou plus exactement acétyl-CoA, acide pyruvique, acides du cycle tricarboxylique (succinique, fumarique).

Enfin, dans certains cas, le produit d'ouverture peut s'unir à une molécule d'ammoniac pour donner un hétérocycle azoté.



L'ouverture du cycle peut être assurée par des Bactéries variées : *Micrococcus*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, etc. ; par des Champignons : *Pullularia*, *Neurospora*, *Aspergillus*, *Penicillium*, Basidiomycètes lignivores ; enfin, par des Actinomycètes : *Nocardia*.

L'aptitude à utiliser un substrat aromatique est inductible, de sorte que les cultures adaptées répondent par un dégagement immédiat de CO_2 à un apport de substrat.

c) **Les phénomènes de condensation oxydative.** — Leur importance est peut-être encore plus considérable : ils sont impliqués dans la formation des mélanines, des tannins, des substances humiques.

Ils sont catalysés par des enzymes mal connues, classées suivant leurs activités en deux groupes : la laccase et la tyrosinase. Toutes deux catalysent l'oxydation des phénols avec formation de radicaux libres (cf. p. 307). La tyrosinase possède aussi la particularité de pouvoir hydroxyler les monophénols (activité crésolase) puis d'oxyder le diphénol (activité catécholase).

Enfin, l'oxydation peut être catalysée par le système peroxyde-peroxydase. Les radicaux libres se condensent ensuite entre eux pour donner naissance à des produits de plus en plus polymérisés et de teinte brune.

Les réactions de brunissement peuvent être assurées par divers micro-organismes de la litière et de la phyllosphère : des Bactéries (*Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Agrobacterium*, *Arthrobacter*). On sait qu'*Azotobacter* oxyde l'acide benzoïque en donnant des substances parahumiques.

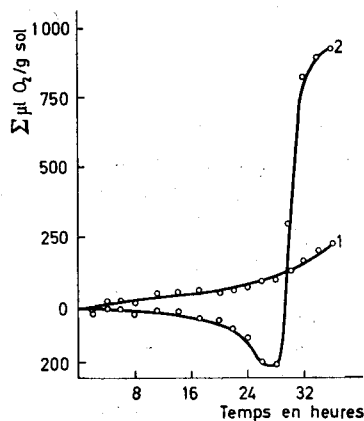
C'est encore le cas de Levures (*Rhodotorula*, *Tilletiopsis*) et de Champignons filamenteux (*Cladosporium*, *Phialophora*, Basidiomycètes lignivores). Ces derniers sont capables d'oxyder les composés phénoliques en produisant autour de leurs cultures sur gélose des auréoles colorées. C'est le principe de la réaction de BAVENDAMM et de ses modifications (LYR, 1958).

d) **Importances respectives des deux voies.** — C'est un point sur lequel nous sommes encore très mal renseignés ; et pourtant le choix de l'une ou de l'autre a une importance certaine pour l'évolution de la matière organique dans le sol. L'ouverture du cycle conduit à la minéralisation, l'oxydation à l'accumulation de polymères résistants et susceptibles de protéger d'autres substances contre la biodégradation.

On peut dire seulement que la tension d'oxygène est probablement d'une grande importance. On sait depuis longtemps que le noyau aromatique n'est pas détruit en anaérobiose ; *Arthrobacter* ne produit de pigments bruns que s'il est cultivé sous pression réduite d'oxygène et *Micrococcus varians* n'en produit pas non plus en culture agitée (cf. p. 306).

e) **Décomposition des phénols dans le sol.** — KUNC et MACURA (1966) ont étudié par respirométrie au laboratoire la minéralisation de l'acide quinique et de trois composés phénoliques. Leur dégradation est toujours accélérée en présence de glucose ; elle nécessite une phase d'adaptation, mais la préincubation du sol avec certains de ces substrats détermine des phénomènes complexes d'inhibition puis de stimulation qui modifient l'allure sigmoïde habituelle des courbes cumulatives de dégagement de CO_2 (fig. 28). De plus, la courbe d'intensité respiratoire montre des pics successifs, dans le cas de la vanilline et de la coumarine, comme s'il existait des phases successives de minéralisation.

FIG. 28. — Courbes cumulatives de la consommation d'oxygène dans un sol alimenté en coumarine après pré-incubation dans l'eau (1) ou dans une solution de coumarine (2). Les chiffres obtenus avec des témoins (respiration endogène) ont été déduits. On remarquera l'inhibition croissante jusqu'à 28 h, suivie d'une stimulation intense (KUNC et MACURA, 1966).



Le ménilotoside, hétéroside de l'acide *o*-coumarique, est dégradé par des Bactéries des genres *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, avec libération de l'aglycone qui se transforme spontanément en coumarine. Cette substance est ensuite dégradée par une microflore différente de Bactéries, d'Actinomycètes et de *Penicillium* (RIVIÈRE et CHAUSSAT, 1966).

Plus des trois quarts des souches d'*Arthrobacter* isolées du sol par STEVENSON (1967), sont capables d'utiliser des composés aromatiques plus ou moins nombreux.

Enfin, il convient de signaler l'existence, dans les sols de pinèdes, de Bactéries qualifiées par DASTE de rétinolytiques parce qu'elles attaquent les résines de Conifères (Pin

maritime) comprenant des acides résiniques insaturés apparentés à l'acide abiétique. On connaît un *Flavobacterium* et un *Pseudomonas* répondant à cette définition et dont la spécificité est assez étroite bien que l'un d'entre eux agisse également sur des composés aromatiques simples (RAYNAUD et coll., 1968).

CONCLUSION. — A vrai dire, l'importance des phénols est plus qualitative que quantitative : les masses de carbone engagées dans ces combinaisons sont faibles, tandis que leur activité biologique est considérable. Ce sont souvent des polyphénols qui interviennent dans la résistance des plantes aux Champignons parasites ; ce sont encore eux que l'on retrouve dans les phénomènes d'allélopathie qui permettent à une espèce végétale de s'opposer à la germination ou à la croissance d'autres espèces. RIVIÈRE et CHAUSSAT rappellent qu'un sol contenant quelques ppm seulement de coumarine inhibe la levée et le développement des racines chez de nombreuses plantes. Mais la rhizosphère de la Flouve sélectionne les micro-organismes capables de dégrader l'inhibiteur et dont l'effet est d'assurer une désintoxication du sol dont on comprend l'importance.

On se rappellera encore les actions toxiques exercées par les phénols des végétaux supérieurs à l'égard de la microflore du sol (cf. p. 532). La structure chimique de chaque substance détermine son activité et la possibilité de son utilisation par un plus ou moins grand nombre d'organismes qu'elle favorise en réduisant l'intensité des phénomènes de compétition auxquels ils étaient soumis.

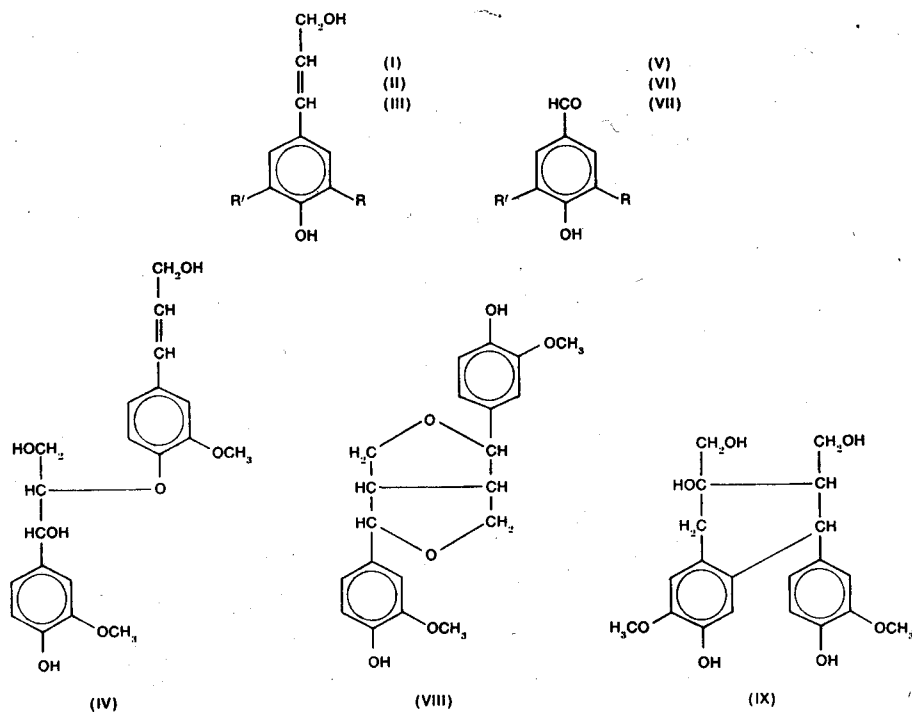
3° La lignine

a) **Introduction.** — La lignine, inconnue chez les Thallophytes et probablement aussi chez les Bryophytes, est un constituant important des végétaux vasculaires chez lesquels elle incruste les membranes squelettiques de tissus essentiels : xylème et sclérenchymes.

On admet qu'elle représente, en poids, dans la nature, environ 60 % de la cellulose, de sorte qu'elle occupe la deuxième place, du point de vue quantitatif, parmi les constituants des débris végétaux. D'après les estimations courantes, les bois en contiennent de 18 à 35 %, et, de façon surprenante, les organes herbacés n'en renferment guère moins : 21 à 31 % dans les pailles, 10 à 24 et même 35 % dans les litières forestières. Il est vrai que les dosages de lignine sont imprécis et conventionnels, mais il n'en reste pas moins que, chaque année, cette substance est restituée au sol en masses importantes et que sa décomposition est donc une étape essentielle du cycle du carbone. De plus, la nature chimique de la lignine est très différente de celle des autres constituants des membranes squelettiques, ce qui lui confère une résistance exceptionnelle aux agents biologiques de dégradation et lui permet de jouer probablement un rôle important comme source des substances humiques.

b) **Les lignines.** — Les lignines — car elles diffèrent d'un groupe systématique à l'autre — ne sont pas, comme la plupart des constituants des membranes squelettiques, des substances glucidiques, mais des polymères aromatiques de poids moléculaire assez

élevé (peut-être 8 000 à 10 000) composés d'unités phényl-propane (C_6-C_3) diversement substituées. Elles appartiennent ainsi à la même famille de composés que certains pigments (flavonoïdes et anthocyanes en $C_6-C_3-C_6$) et que deux acides aminés universellement répandus, phénylalanine et tyrosine. La biosynthèse de la lignine se réalise au niveau des tissus jeunes (cambium, par exemple) par hydrolyse d'hétérosides aromatiques avec libération d'aglycones (I à III); puis ces derniers seraient transformés en radicaux libres sous l'influence d'oxydases (laccase et peroxydase). Le stade suivant n'est plus enzymatique et consiste en une condensation au hasard des radicaux présents pour donner des complexes tridimensionnels, probablement très variables suivant la nature des unités élémentaires qui les constituent et l'ordre dans lequel elles s'unissent. A titre d'exemple, on a représenté en IV un des maillons possibles de ce réseau : l'éther guaïacyle-glycérol- β -coniférylique.



I et V : $R = R' = H$ (I = alcool p. hydroxycinnamique ; V = p. hydroxybenzaldéhyde).

II et VI : $R = OCH_3$, $R' = H$ (II = alcool coniférylique ; VI = vanilline).

III et VII : $R = R' = OCH_3$ (III = alcool sinapylique ; VII = aldéhyde syringique).

Ces conceptions résultent, entre autres, de l'étude des produits d'oxydation par le nitrobenzène alcalin de lignines isolées : le traitement fragmente la molécule de lignine et raccourcit les chaînes latérales en donnant des corps en C_6-C_1 (V à VII). Enfin, ces idées ont été confirmées plus récemment par l'obtention de lignines synthétiques possédant les mêmes propriétés physiques et chimiques que les produits naturels.

En même temps que les lignines, on rencontre dans le bois des dimères résultant de l'union par leurs chaînes latérales de deux unités en C_6-C_3 , ce sont les lignanes (VIII) et les cyclo-lignanes (IX). On a pensé qu'ils pouvaient être des précurseurs des lignines, mais ce point de vue n'est pas admis par tous.

Il ne nous est pas possible de nous étendre davantage sur ces questions qui ont été exposées plus en détail par SCHUBERT (1965).

Retenons simplement que les lignines sont des polymères probablement réticulés, riches en C (67,5 %), en groupements méthoxyle (15 à 16 % chez les Conifères et plus de 21 % chez les Dicotylédones) et en hydroxyles alcooliques et phénoliques (1 OH phénolique libre pour 3 OCH_3 environ). En effet, le type II prédomine chez les Conifères dont la lignine fournit par oxydation surtout de la vanilline ; les types II et III forment, presque à égalité, l'essentiel des lignines de Dicotylédones. Enfin, le type I représente près du 1/3 des lignines de Graminées qui fournissent, en quantité plus importante que les autres, du *p*-hydroxybenzaldéhyde.

Dans les tissus, la lignine se dépose d'abord au niveau des lamelles mitoyennes dont elle peut constituer une fraction importante (71 % chez le Sapin de Douglas), puis dans la paroi primaire ; mais souvent aussi la paroi secondaire est atteinte par la lignification. La lignine s'accumule entre les mailles du réseau cellulosique ou à la surface de ses fibrilles, ce qui explique l'effet protecteur qu'elle exerce vis-à-vis de la cellulose (fig. 29). Mais il semble n'y avoir aucune liaison chimique entre les deux substances, et la lignine serait plutôt liée aux glucides secondaires pariétaux, peut-être par des liaisons éther.

La lignine peut être extraite de la paroi par solubilisation, ou bien séparée des fractions glucidiques par destruction de celles-ci, mais toutes ces méthodes entraînent

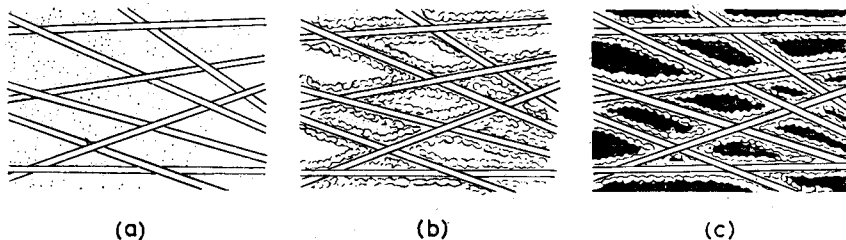


FIG. 29. — Schéma de la lignification. En (a) la charpente cellulosique est noyée dans un ciment polyosidique ; en (b), dépôt de lignine autour des fibrilles de cellulose ; en (c), les espaces libres sont imprégnés de composés phénoliques ou de sels minéraux (FREY-WYSSLING et MÜLETHALER, 1965).

des modifications plus ou moins profondes de ses caractéristiques et l'on a pris l'habitude de désigner sous le nom de protolignine les substances telles qu'elles existent dans les parois, par opposition aux différentes préparations de lignine. Parmi celles-ci, on citera les *ligno-sulfonates*, obtenus en papeterie par traitement des pulpes à l'aide d'une solution acide de NaHSO_3 , les *alcali-lignines*, obtenues par action de la soude et de Na_2S , les *phénol-lignines*, *éthanol-lignines*, etc. Mais, même un simple traitement à l'autoclave par l'eau distillée suffit à provoquer la solubilisation lente d'une partie de la protolignine (plus de 10 % en 50 jours à 100° , cf. BROWNING, 1963). Pour obtenir des produits aussi peu altérés que possible, on recourt à l'extraction par l'éthanol à froid, soit de la sciure fraîche (lignine native de BRAUNS), soit d'une poudre fine de bois (lignine de BJÖRKMAN), soit d'un bois attaqué par un Champignon cellulolytique (lignine enzymatique de NORD). Mais ces préparations correspondent à des substances moins polymérisées (produits de bas P.M. et lignanes dans le cas de la lignine native) ou plus ou moins modifiées (lignine enzymatique). Toutes les expériences physiologiques effectuées sur des « lignines pures » utilisent l'une ou l'autre de ces préparations et il faut se montrer extrêmement prudent lorsqu'il s'agit de les interpréter.

Ce qui précède montre encore que, si la structure fondamentale de la lignine est capable de résister aux méthodes d'hydrolyse les plus brutales (H_2SO_4 à 72 %), sa molécule est aussi d'une grande fragilité, intéressant notamment les substituants des noyaux aromatiques : chaînes latérales, groupements OH et OCH_3 . Ainsi un traitement acide ou alcalin transforme avec la plus grande facilité la lignine native en produits noirs insolubles. Incorporée à un silico-gel nutritif et abandonnée à l'air, elle se transforme spontanément, par dessiccation à la température ordinaire, en substances brunes riches en azote aminé et que l'on a comparées aux acides humiques (SÖRENSEN, 1962).

c) *Organismes responsables.* — Les lignines purifiées sont des aliments très médiocres, même pour des organismes détruisant rapidement la protolignine dans la nature. Ainsi, certains Champignons lignivores puissants ne peuvent croître sur un milieu contenant de la lignine native comme seule source de carbone, si ce n'est après une longue période d'adaptation par repiquages successifs sur des milieux additionnés de glucose.

Aussi ne peut-on préparer des milieux électifs semblables à ceux que l'on utilise pour l'étude de la cellulolyse et grâce auxquels on peut mettre directement en évidence et même dénombrer les organismes actifs. On a bien eu recours à des préparations contenant des produits « apparentés à la lignine » (lignanes, aldéhydes aromatiques, lignine de BRAUNS), mais aucun d'entre eux ne permet de reconnaître les aptitudes des micro-organismes à fragmenter la molécule de lignine (HAIDER et SCHETTERS, 1967). Ces aptitudes ne peuvent être étudiées jusqu'ici que sur des souches déjà isolées et en utilisant, si possible, un substrat naturel.

Nos connaissances concernant les activités ligninolytiques dans le sol sont donc assez imprécises. Mais l'analyse des phénomènes beaucoup mieux connus de pourriture des bois peut fournir des indices précieux ; ces mêmes phénomènes se retrouvent en

effet au niveau des litières et, bien sûr, dans le sol, chez les débris ligneux en décomposition (rameaux enfouis, racines).

1° Les Champignons. — On distingue trois types de pourriture du bois :

— les *pourritures molles* sont dues à des populations complexes comprenant des Ascomycètes (*Chaetomium*, *Xylaria*, *Hypoxylon*) et de nombreux Champignons Imparfaites (*Coniothyrium*, *Stysanus*, *Alternaria*, etc.). Elles consistent en une dégradation progressive des fractions glucidiques qui sont respirées sans apparition de sucres ou autres substances intermédiaires. La lignine ainsi libérée subit une lente altération et le matériel végétal se transforme partiellement en une masse noirâtre et inorganisée, mais les pertes de poids restent faibles (DUNCAN, 1959) ;

— les *pourritures brunes* sont dues à certains Basidiomycètes (*Gyrophana lacrymans*, *Armillariella mellea* dont on peut rapprocher, pour les litières, *Laccaria laccata*, etc.). Les polyosides pariétaux sont dégradés si rapidement que des substances réductrices apparaissent (cf. cellulolyse) alors que la lignine subit, encore une fois, des altérations partielles ;

— les *pourritures blanches* sont dues à quelques Ascomycètes (*Hypoxylon*, *Xylaria*, etc.) et surtout à des Basidiomycètes Agaricales (*Pholiota*) ou Aphyllophorales (*Stereum*, *Coriolus*, *Fomes*, etc.). Elles consistent en une dégradation simultanée — bien que pas toujours à la même vitesse — des polyosides et de la lignine (K. SEIFERT, 1966). Sous leur action, la perte de poids est rapide, le substrat se décolore, se transforme en une masse fibreuse ou fragile, dont la structure est d'abord conservée, parce que subsiste une partie de la charpente cellulosique. En même temps apparaissent de grandes quantités de substances solubles, colorées, comprenant, entre autres, des phénols simples (JACQUIN, 1963). Comme les types précédents, la pourriture blanche se retrouve au niveau des litières forestières et l'on connaît de nombreuses espèces qui provoquent la décoloration du matériel et la destruction rapide de la lignine : *Collybia*, *Mycena*, *Clitocybe*, *Pholiota*, *Marasmius*, *Clavaria*, etc. (LINDBERG, 1946 ; SAITO, 1966). Il en va sans doute de même dans les sols : WAKSMAN (1931) a montré l'activité sur la lignine de *Coprinus radians* et de *Psalliota campestris*. Marasmes et Psalliotés comprennent des espèces telluriques dont WARCUP (1951) a suivi la croissance dans les sols. Enfin des méthodes appropriées montrent que des Champignons de pourriture blanche existent dans de nombreux sols où ils travaillent activement, au moins lorsqu'ils disposent de substrats convenables.

2° Les Bactéries. — Leur rôle est moins clair ; divers auteurs ont essayé de le préciser (ALEXANDER, 1961) : certains *Pseudomonas* oxydent la lignine native, l'éthanol-lignine et leurs produits de dégradation. De même la lignine native est solubilisée par divers *Pseudomonas* et *Flavobacterium* (SØRENSEN, 1962) et les *Agrobacterium* isolés par SUNDMAN (1965) attaquent les monomères aromatiques et les lignanes, mais ont peu d'action sur les dimères de même structure que la lignine et probablement aussi sur cette dernière.

Le rôle des Actinomycètes est encore moins bien connu, car les expériences que lui a consacrées WAKSMAN (1931) sont peu démonstratives.

En conclusion, on peut admettre qu'un nombre relativement élevé de micro-organismes divers sont capables de dégrader les substances apparentées à la lignine (lignanes, monomères aromatiques et certaines préparations, telle la lignine native) ; mais en ce qui concerne la protolignine, c'est-à-dire le produit naturel engagé dans les structures pariétales complexes, le nombre des espèces actives semble beaucoup plus réduit.

Divers Hyménomycètes, et, en particulier, ceux qui fournissent une réaction de BAVENDAMM positive, sont doués d'une remarquable efficacité : la plupart des espèces étudiées par LINDBERG (1946) fragmentent, en six mois, 30-60, voire même 77 % de la lignine d'une litière de Hêtre en libérant des monomères solubles qui subissent ensuite des sorts variables, comme nous le verrons plus loin.

Dans les autres groupes systématiques, l'aptitude à décomposer la lignine est l'apanage d'un nombre limité d'espèces dont les activités sont inférieures à celles des Hyménomycètes. Elles sont encore appréciables chez les Xylariacées ou les *Alternaria* qui forment un groupe d'activité moyenne (LEVI, 1966). Ainsi, sur 106 espèces étudiées par LEDINGHAM et ADAMS (1942), certains *Alternaria* et *Fusarium* se montrent les plus efficaces en détruisant, en deux mois, 12 à 18 % du lignosulfonate du milieu. Les chiffres obtenus par GULYAS (1967) après six mois de culture sur paille de Blé sont du même ordre (tableau XXVI).

TABLEAU XXVI. — DÉCOMPOSITION DE LA LIGNINE DE LA PAILLE
PAR DIVERS CHAMPIGNONS, APRÈS SIX MOIS EN CULTURE PURE
(d'après GULYAS, 1967)

ESPÈCE CULTIVÉE	TAUX DE DÉCOMPOSITION (%)	
	Total	De la lignine
<i>Penicillium funiculosum</i> ser.	33,2	9,3
<i>Penicillium purpurogenum</i> ser.	29,6	3,0
<i>Fusarium avenaceum</i>	35,6	20,2
<i>Fusarium solani</i>	27,8	7,6
<i>Stachybotrys atra</i>	34,4	17,6
<i>Verticillium candelabrum</i>	45,9	12,4
<i>Inoculum mixte</i>	32,8	16,5
<i>Clitocybe nebularis</i> (a)	33,3	66,0

(a) D'après LINDBERG, 1946, sur feuilles de *Glyceria*.

Quant au rôle des Bactéries, il semble bien résumé par JASCHHOF (1964) : les Bactéries qu'il a isolées des lignites dégradent moins de 10 % de l'alcali-lignine du milieu en trois mois. Ensuite, leur action paraît suspendue et l'on peut penser que leur attaque

se limite aux chaînes latérales sans qu'il y ait rupture des liaisons éther phénolique, beaucoup plus stables. La structure fondamentale de la lignine demeurerait donc plus ou moins conservée.

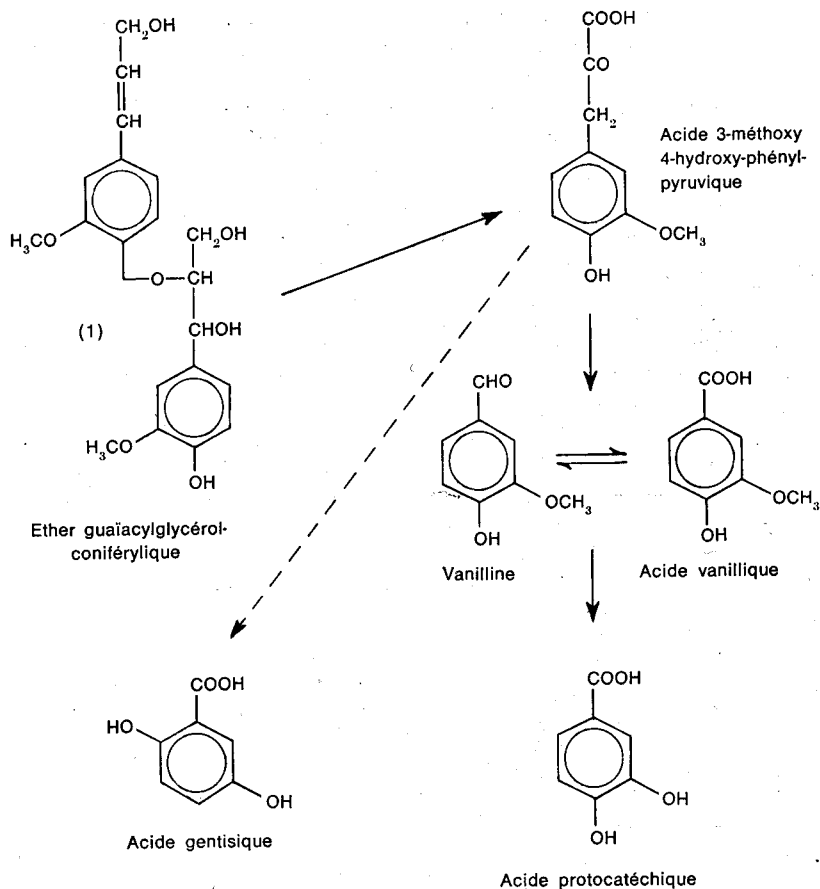
HAIDER et SCHETTERS (1967) ont réussi à mettre en évidence chez des pailles en décomposition divers mycéliums oxydant les phénols et qui semblent décomposer la lignine parfois aussi activement que la cellulose. Certains sont des Ascomycètes et d'autres des mycéliums stériles, peut-être des Basidiomycètes. Les conclusions de ces auteurs rejoignent ce que nous avons exposé plus haut : dans les sols agricoles aussi bien que forestiers, les Basidiomycètes sont probablement les agents les plus actifs de décomposition de la lignine, mais ils ne sont pas seuls à intervenir ; des Ascomycètes et des Deutéromycètes apparentés à ceux-ci jouent un rôle appréciable, tandis que celui des Bactéries reste problématique.

d) Mécanismes de dégradation. — Nous avons appris au paragraphe précédent que la dégradation de la lignine pouvait consister en une fragmentation avec libération de composés solubles, dans les pourritures blanches, ou en une altération partielle avec formation de substances sombres dans les autres cas.

1° Clivage de la molécule. — La plupart des Hyménomycètes des pourritures blanches fournissent une réaction de BAVENDAMM positive ; en effet, ils produisent des enzymes extracellulaires des types laccase et, souvent aussi, peroxydase, alors que ceux des pourritures brunes possèdent des activités laccase et tyrosinase uniquement intracellulaires de sorte qu'elles ne peuvent agir sur les substrats insolubles qu'après lyse du mycélium (RÖSCH, 1966).

On pouvait imaginer que ces oxydases intervenaient dans la dégradation de la lignine comme elles avaient participé à sa synthèse par suite de la réversibilité des actions enzymatiques. Mais le rôle des oxydases dans la biogenèse de la lignine est de transformer les précurseurs en radicaux libres qui se condensent ensuite spontanément sans participation directe de l'enzyme. De plus, la réaction de BAVENDAMM n'a pas une valeur générale : certains Basidiomycètes lignivores ne la fournissent pas et elle n'est pas un critère de pouvoir ligninolytique chez les Ascomycètes et les Deutéromycètes. On ignore donc, pour le moment, la nature des mécanismes conduisant au clivage de la molécule de lignine. On pense toutefois qu'ils sont oxydatifs et qu'ils conduisent à la formation de dimères tels que l'éther guaiacyl-glycérol- β -coniférylique. Ces dimères se dédoublent ensuite pour donner des unités en C_6-C_3 .

On est ainsi ramené au cas déjà envisagé des phénols : rupture de la chaîne latérale pour donner des acides-phénols en C_6-C_1 . En effet, on peut isoler des débris végétaux atteints de pourriture blanche des acides vanillique, syringique et *p*-hydroxybenzoïque en proportions diverses suivant la composition de leur lignine. On rencontre également les aldéhydes et alcools correspondants, car les micro-organismes lignivores savent réaliser simultanément oxydation et réduction de ces produits. Ainsi apparaissent les mêmes substances que lors de l'oxydation de la lignine par le nitrobenzène alcalin (HENDERSON, 1955).



Les phénols libérés subissent ensuite les transformations que nous connaissons ; ou bien ils sont dégradés avec ouverture du cycle benzénique, ce qui conduit à leur minéralisation, ou bien ils se polymérisent à nouveau sous l'influence des oxydases du Champignon. Dans ce cas, des radicaux libres apparaissent, comme lors de la synthèse de la lignine, et ces radicaux se condensent entre eux ou avec des monomères non ionisés pour donner des substances en majeure partie hydrosolubles que l'on a comparées aux acides fulviques ou à des acides humiques peu condensés (JACQUIN et MANGENOT, 1960). Certains d'entre eux sont plus ou moins toxiques pour le Champignon, tandis que d'autres peuvent être réutilisés par celui-ci, en particulier ceux qui résultent de la condensation d'unités en C_6-C_3 avant coupure des chaînes latérales (HAIDER et coll., 1964).

2° Altération de la lignine. — En l'absence de pourriture blanche, le clivage de la molécule de lignine est peut-être limité aux liaisons les plus fragiles, telles que les

liaisons éther entre chaînes latérales. On voit ainsi apparaître une quantité modérée de monomères ; mais le principal effet des pourritures molles et brunes est probablement de déméthoxyler la lignine résiduelle ; en outre, on peut supposer que des chaînes latérales libres en C_3 sont coupées et que des oxydations se produisent.

La fraction lignine des débris végétaux se transforme ainsi peu à peu en d'autres constituants, encore non hydrolysables, mais plus pauvres en méthoxyles, plus riches en groupements à caractère acide ($-COOH$ et $-OH$ phénolique) et en hydroxyles alcooliques (BROADBENT, 1954). OGLESBY et ses collaborateurs (1967) pensent, en se fondant sur le nombre élevé des groupements $-COOH$ et $=CO$ apparus, que des ouvertures de cycle doivent aussi avoir lieu.

En même temps que se produisent ces modifications chimiques, la lignine résiduelle devient de plus en plus sombre et se transforme en une substance brune, enrichie en azote, partiellement extractible par la soude, dont la capacité d'échange est accrue et que certains auteurs ont assimilée aux acides humiques (FLAIG et coll., 1959). Mais la minéralisation de son carbone reste lente et partielle. Dans le cas des pourritures brunes, RÖSCH (1961) a même supposé que les oxydases intracellulaires sont susceptibles, après autolyse du mycélium, de catalyser des phénomènes d'oxydation entraînant une condensation supplémentaire des chaînes de lignine.

e) Facteurs écologiques. — La lignine se transforme sans aucun doute dans tous les sols, mais, nous venons de le voir, elle peut le faire de façons différentes, à des vitesses inégales et avec production de substances variées. Les facteurs déterminant l'apparition de l'un ou l'autre de ces types de pourriture de la matière végétale ont donc une grande importance pour l'évolution de cette dernière et influent peut-être sur la pédogenèse, comme nous le verrons en étudiant les phénomènes d'humification.

Nous connaissons encore très mal les conditions déterminant le mode d'attaque de la lignine dans un milieu donné, mais les quelques résultats dont nous disposons semblent indiquer qu'elles sont analogues à celles qui jouent dans les bois pourrissants. Malheureusement, dans ce dernier cas, la plupart des expériences ont été réalisées en culture pure, c'est-à-dire en négligeant l'effet des phénomènes de compétition, de sorte que les résultats disponibles sont trop souvent sujets à caution.

1° Aération. — La pourriture blanche est un processus aérobie dont sont exempts les bois saturés d'eau, flottés ou submergés. Mais les Champignons qui la provoquent peuvent, en général, supporter des tensions d'oxygène plus ou moins réduites ; ainsi, la croissance de *Coriolus versicolor* est indépendante de la pression partielle d'oxygène tant que celle-ci reste supérieure à 37 mm (CARTWRIGHT et FINDLAY, 1946). Le phénomène se rencontre donc dans les bois enfouis et dans les racines mortes jusqu'à une grande profondeur. Quant à l'influence de la concentration en CO_2 , elle est mal connue et semble variable.

En anaérobiose, l'altération de la lignine est probablement l'œuvre de Bactéries et se traduit notamment par une déméthoxylation intense et un enrichissement en N.

TABLEAU XXVII. — VARIATION DES TAUX DE MÉTHOXYLE ET D'AZOTE
DANS LA LIGNINE D'UNE PAILLE DE RIZ EN DÉCOMPOSITION
DANS DIFFÉRENTES CONDITIONS D'AÉRATION
(GUHA-SIRCAR, DE et BHOWMICK, 1940)

TRAITEMENT	1 (plante jeune)				2 (plante âgée)			
	3 mois		6 mois		3 mois		6 mois	
	OCH ₃	N	OCH ₃	N	OCH ₃	N	OCH ₃	N
Aérobic	7,78	1,31	6,34	1,63	8,47	1,28	7,82	1,49
Sol saturé	5,82	1,39	5,31	1,87	6,52	1,38	5,87	2,48
Anaérobic	4,75	1,68	4,01	2,58	6,01	1,73	5,65	2,98

Mais il n'y a pas solubilisation et les débris végétaux subissent une sorte de carbonisation lente rappelant les phénomènes qui ont conduit à la formation du lignite et de la houille (BARGHOORN) (tableau XXVII).

2° **Humidité.** — Dans un tas de sciure en décomposition sur le sol, les couches supérieures soumises à des alternances de lessivage et de dessiccation noircissent et subissent une dégradation lente et partielle (BONNEAU et coll., 1964). Plus bas, à un niveau où l'humidité demeure plus constante, mais cependant modérée, se développe une pourriture blanche ; enfin, en profondeur, la sciure se transforme en une masse brun-rouge visqueuse, siège de fermentations qui peuvent élever sensiblement sa température. Cette stratification est moins nette dans les litières, mais semble bien exister encore.

Une teneur en eau de 70 % (en valeur absolue) est plus favorable *in vitro* aux agents de pourriture blanche, confrontés à une microflore tellurique globale, que des humidités de 75 ou 81 % (MANGENOT, 1966a).

Par contre, les pourritures molles se rencontrent dans les bois très humides ou constamment lessivés ou, au contraire, relativement secs et soumis à des lessivages périodiques.

L'humidité apparaît ainsi comme un facteur important dont les valeurs moyennes favorisent le clivage de la lignine. Il semble que cette condition soit réalisée dans un sol normalement drainé ; d'autre part, la présence d'un Hyménomycète dans un sol rend celui-ci difficilement mouillable (BOND et HARRIS, 1964 ; OHARA et HAMADA, 1967) ce qui peut favoriser les aptitudes compétitives du Champignon.

3° **pH.** — Les bois ou les sciures atteints de pourriture blanche sont plus ou moins acides ; au contraire, si le matériel s'assombrit sous l'influence de populations complexes, riches en Bactéries et Champignons fuligineux, le pH reste stable ou s'élève (JACQUIN et MANGENOT, 1960).

Les préférences, *in vitro*, des Champignons lignicoles sont en accord avec ces remarques : les agents de pourriture blanche sont plutôt acidiphiles et acidifiants, ceux des pourritures molles ayant des comportements variables et pouvant même être neutrophiles et neutralisants. Ils croissent encore à pH 3,0, mais leur optimum est souvent à 6,0-7,0, voire même 8,0 (DUNCAN, 1959).

On serait donc tenté de croire que, dans les sols neutres ou alcalins, Bactéries, Actinomycètes et Moisissures banales sont prépondérants et que la lignine subit une lente évolution alors qu'elle serait solubilisée en donnant des substances humiques agressives dans les sols acides. Mais c'est là une schématisation erronée : les Hyménomycètes ligninolytiques ne forment pas un groupe homogène dans ses exigences, et l'on peut en rencontrer aussi bien dans certains podzols de pH 4,7-5,2 que dans un mull actif de pH 7,4-8,0, alors que le premier se couvre d'un humus épais et que le second comporte un Ao très réduit. Naturellement, les espèces isolées de sols aussi opposés sont différentes, mais leur efficacité n'est pas en relation avec leur origine.

4° Température. — Les Champignons des pourritures brune et blanche sont des mésophiles peu exigeants pour lesquels l'optimum dépasse rarement 30 °C dans le cas des espèces des régions tempérées et se trouve probablement plus bas dans les conditions naturelles. Les agents des pourritures molles préfèrent des températures plus élevées, leur optimum se trouvant, selon les espèces, à 28-34° et atteignant parfois 38° (DUNCAN, 1959).

Tous, par contre, sont très résistants aux basses températures (−21 à −26 °C) et peuvent même se trouver stimulés après action du froid (LIESE, 1931 pour les agents de pourriture blanche ; VON PECHMANN, 1966 pour les Champignons fuligineux).

Enfin, VIRTANEN et HUKKI (1946) ont étudié la décomposition de poudre de bois à 57-60 °C : les populations thermophiles détruisent une petite fraction de la lignine (11 %) en un mois comme en trois mois.

5° Sources de carbone associées. — La fragmentation de la lignine paraît liée à l'utilisation d'une certaine quantité d'aliments glucidiques, comme si l'on avait affaire à une réaction consommatrice d'énergie (RÖSCH, 1961). Ainsi, une culture pure fongique attaque plus difficilement une sciure de Conifère préalablement extraite à l'eau que ce même produit non traité (PETERSON et COWLING, 1964).

Dans la nature, la lignine est toujours accompagnée de substances solubles ou facilement hydrolysables et présentes en plus ou moins grande quantité dans les débris végétaux ; aussi l'attaque de ces derniers est-elle d'abord le fait de micro-organismes glucophiles dont la prolifération retarde le développement des formes plus spécialisées (MANGENOT, 1952). Par la suite, quand les aliments facilement mobilisables sont épuisés, suivant les conditions du milieu, s'épanouissent ou bien des populations cellulolytiques, correspondant à la pourriture molle des bois, ou bien des espèces ligninolytiques (pourriture blanche). Ainsi, l'extraction à l'eau d'une sciure de Hêtre confère à cette dernière le caractère de substrat électif pour les Champignons des pourritures blanches ; mais si on lui ajoute du glucose, cet effet est retardé (MANGENOT et REYMOND, 1963). De même

l'extraction par l'eau d'une litière de Hêtre rend celle-ci plus défavorable aux Moisissures banales qu'aux Hyménomycètes ligninolytiques (SAITÔ, 1958). La plupart des travaux montrent d'ailleurs que, dans des conditions données, un même organisme décompose toujours plus lentement la « lignine pure » que la fraction protolignine d'un tissu végétal.

6° **Richesse en azote.** — La vitesse de décomposition du bois est proportionnelle à la richesse en azote du milieu aussi bien dans le cas des pourritures molles que dans celui des pourritures blanches. Cependant, les Hyménomycètes ligninolytiques sont plus aptes que les autres micro-organismes à attaquer des substrats extrêmement pauvres comme le bois dont le C/N varie entre 350 et plus de 1 000, peut-être parce qu'ils sont capables de réutiliser l'N de leur mycélium âgé ou de s'en procurer d'une autre façon (LEVI et coll., 1968).

D'autre part, la nature des sources d'N exerce une grande influence : dans une sciure enrichie en asparagine, les populations banales du sol prolifèrent assez activement pour éliminer les agents de pourriture blanche, tandis que l'N minéral ne semble pas nuire aux aptitudes compétitives de ces derniers. Pourtant, en culture pure, les nitrates sont pour eux des sources d'N médiocres utilisables seulement en présence d'aneurine (tableau XXVIII).

TABLEAU XXVIII. — INFLUENCE DES SOURCES DE C ET DE N
SUR LA DÉCOMPOSITION DE LA LIGNINE D'UNE SCIURE PAR UN CHAMPIGNON LIGNINOLYTIQUE.
(*Trechispora* sp.) EN PRÉSENCE DE LA MICROFLORE D'UN SOL
(MANGENOT et REYMOND, 1963)

TRAITEMENT	PERTE DE POIDS %	LIGNINE %	LIGNINE RÉSIDUELLE (a)
Sol + <i>Trechispora</i>			
Asparagine 0,22 ‰	23	24,4	70
Asparagine 2,2 ‰	10	25,2	84
NH ₄ NO ₃ , 1,3 ‰	46	21,8	45
NH ₄ NO ₃ + glucose	28,6	22,1	58
Inoculum : sol	31	39	100
<i>Trechispora</i> (culture pure)	48	28,6	55
(a) En % de la lignine initiale.			

Les observations que nous venons de rapporter montrent que, dans la nature, la richesse en aliments disponibles (sources de C et d'N organique) est susceptible d'entraver la décomposition de la lignine ; mais, inversement, une activité biologique globale intense peut lui être favorable en accélérant la disparition des fractions facilement assimilables et en assurant une minéralisation rapide de l'azote.

7° Influence de la végétation. — Elle intervient non seulement en déterminant la nature et l'abondance des sources de C et d'N qu'elle apporte au sol, mais aussi par des actions plus spécifiques et, pour une large part, inexplicables.

Les Champignons des bois n'attaquent pas les litières dans la nature même s'ils sont capables de le faire en culture pure. De plus, suivant le matériel utilisé, les activités varient : telle espèce est plus efficace sur feuille de Hêtre ou, au contraire, sur aiguilles de Conifères ou sur pailles de Graminées. Bien plus, d'une récolte à l'autre, une même litière peut être plus ou moins fragile ou résistante (LINDBERG, 1946). On sait d'ailleurs que, suivant les espèces, les stations, l'âge, les organes des végétaux sont plus ou moins riches en substances protectrices, par exemple en composés terpéniques ou phénoliques dont l'action est toxique ou au moins dépressive pour certains micro-organismes.

Le rôle des essences forestières est particulièrement connu : on a parfois attribué à l'absence des Champignons de pourriture blanche l'accumulation d'humus brut dans les forêts de Conifères, leur présence sous Hêtre conduisant à la formation du mull. La réalité est sans doute beaucoup plus complexe. La simple observation de la nature confirme la fréquence des Hyménomycètes lignivores dans les litières de Hêtre, en particulier sur mull. Par contre, les avis divergent sur leur importance dans les forêts de résineux : ils y sont rares pour SAITÔ (1956), et importants pour MIKOLA (1956). Nous constatons, quant à nous, qu'il est très facile de les mettre en évidence dans les sols des forêts caducifoliées ou mixtes, en particulier sous certaines associations caractéristiques du mull, mais aussi dans les humus bruts alors qu'ils apparaissent plus rarement dans les humus bruts subalpins et les pinèdes sur podzol.

7° Interactions microbiennes. — Les facteurs écologiques sont rarement limitants, hormis peut-être l'humidité et l'aération ; leur rôle est plutôt de déplacer l'équilibre des populations du sol dans un sens favorable à l'un ou l'autre des modes de dégradation de la lignine ; c'est dire qu'ils s'expriment principalement par le jeu des interactions se déroulant au sein de la microflore. Mais il est assez difficile de reconnaître celles-ci en toute certitude : les conditions du milieu exercent en effet sur elles une influence déterminante pouvant aller jusqu'à intervertir les phénomènes observés. D'autre part, ces interactions sont spécifiques de sorte que toute généralisation est dangereuse.

Ces réserves faites, il semble que les Bactéries, dans l'ensemble, sauf peut-être les Myxobactéries cellulolytiques, ne nuisent pas à la croissance des Hyménomycètes lignivores ; réciproquement ces derniers leur sont probablement favorables et BONNEAU et ses collaborateurs (1964) les rencontrent en nombre accru dans les sciures atteintes de pourriture blanche. Par contre, l'influence des Moisissures banales sur les Champignons supérieurs semble variable : elle est nulle ou stimulante pour CHASTUKHIN et NIKOLAEVSKAYA (1962) et probablement nuisible pour MANGENOT et REYMOND (1963) ; les résultats diffèrent donc suivant les espèces en cause et les milieux.

Divers auteurs font état d'antibiotiques produits par les Hyménomycètes et inhibant les Bactéries isolées du bois pourrissant, mais, selon SHIGO (1966) c'est exactement l'inverse qui se produit.

Le parasitisme des Basidiomycètes sur les moisissures n'est pas exceptionnel et BARNETT (1963) considère qu'il est un facteur important permettant la conquête par les Champignons supérieurs de substrats déjà envahis par les espèces glucophiles à croissance rapide.

Enfin, dans le sol, les Hyménomycètes qui ont réussi à coloniser un substrat favorable exercent sur la microflore de puissantes actions inhibitrices : ainsi, au niveau des ronds de sorcière, Bactéries, Actinomycètes et Moisissures banales sont rares et la mycoflore comporte surtout des Ascomycètes (WARCUP, 1951 ; OHARA et HAMADA, 1967).

Des relations d'antagonisme sont encore probables entre les Champignons ligninolytiques et la mésofaune. Les animaux, en dilacérant les débris végétaux et en les transformant en déjections, modifient les conditions d'attaque de la lignine. Réciproquement, la mésofaune fuit les zones atteintes de pourriture blanche : les Collembolés s'éloignent des sciures décolorées et se réfugient dans les régions de teinte sombre ; selon GERE (1963), les Diplopodes et les Isopodes n'attaquent guère les feuilles décolorées. Pour KÜHNELT (1963), le mycélium de *Clitocybe infundibuliformis* qui décolore les litières a une action antibiotique sur la microfaune et sur de nombreux Collembolés.

CONCLUSION. — La décomposition de la lignine a certainement lieu dans tous les sols, mais plus ou moins rapidement et selon des modalités différentes suivant les cas : en présence de Basidiomycètes producteurs d'oxydases extracellulaires, la molécule de lignine est fragmentée en monomères susceptibles de migrer et d'être soit minéralisés, soit condensés en substances brunes peu polymérisées (pourriture blanche). En leur absence, la lignine est progressivement altérée et transformée en produits sombres, analogues à l'humus.

Les études micromorphologiques auxquelles nous avons fait allusion plus haut (p. 117), les dosages chimiques semblent montrer que ce deuxième type de dégradation est le plus fréquent dans le sol. En général, le taux de lignine augmente dans les débris végétaux en décomposition. Tel produit, par exemple, qui contenait à l'état frais 24 % de lignine, en renferme 32 % après six mois. Si l'on tient compte des pertes de matière sèche survenues pendant la même période, on constate que ce taux final correspond à 80-100 % de la lignine initiale et parfois même à plus de 100 %. C'est que, d'une part, certains Champignons synthétisent des substances possédant les mêmes caractères analytiques que la lignine, d'autre part, que nos méthodes de dosage reposent sur des caractères de solubilité ou de résistance à l'hydrolyse qui, dans un matériel décomposé, ne sont plus l'apanage exclusif de la lignine. Elles mesurent, en réalité, des substances nouvelles, probablement des précurseurs humiques.

Mais les renseignements dont nous disposons sont si partiels qu'il faut éviter toute généralisation : dans certaines litières, l'action des agents de pourriture blanche est évidente. Elle se retrouve sans doute dans le sol au niveau de microhabitats privilégiés, tels que des racines en décomposition, à partir desquels elle peut s'étendre et contribuer, sans doute, au clivage de ces polymères aromatiques que sont les substances humiques.

4° Les tannins

Les tannins (ou tanins) sont largement répandus dans le règne végétal et très abondants chez certaines plantes : 15 % dans l'écorce et le bois de Chêne, 25 % dans les feuilles de *Rhus coriaria*, 40 % dans l'écorce d'*Eucalyptus*.

La définition des tannins repose sur leur aptitude à fournir des complexes stables avec les protéines et d'autres polymères tels que la cellulose ou les pectines. Pour que cette combinaison soit possible, il faut que leurs molécules soient volumineuses et portent un nombre suffisant de fonctions phénols de façon à pouvoir établir des liaisons multiples avec les chaînes protéiques ou glucidiques. Mais il faut aussi qu'ils soient hydrosolubles, et l'on admet que leur poids moléculaire varie entre 500 et 3 000.

On les répartit généralement en deux catégories :

— les tannins hydrolysables comprennent une molécule glucidique, par exemple du glucose, dont certaines fonctions alcool sont estérifiées par l'acide gallique ou ses dérivés. Ils sont plus ou moins facilement hydrolysés par voie chimique ou enzymatique (action d'acyl-hydrolases dites tannases) ;

— les tannins condensés sont principalement des flavolanes formées d'unités flavonoïdiques reliées entre elles de façons très diverses, un peu comme les unités élémentaires de la lignine. Ce sont alors des composés très résistants qui répondent aux traitements acides en se polymérisant pour donner des pigments brun-rouge, les phlobaphènes.

La toxicité des tannins pour les Champignons parasites des végétaux supérieurs a été souvent envisagée ainsi que leur aptitude à inhiber les actions enzymatiques, soit en complexant les protéines de l'enzyme, soit en formant avec le substrat une combinaison récalcitrante. On connaît beaucoup moins bien leurs transformations dans le sol.

Leur dégradation paraît être surtout l'œuvre de Champignons, en particulier des *Penicillium* et *Aspergillus* (STAPP et BORTELS, 1935).

Ce sont des représentants de ces deux genres que retrouvent encore COWLEY et WHITTINGHAM (1961) ; selon ces auteurs, le tannin aurait une action élective marquée vis-à-vis de la population fongique. Sur huit espèces exclusivement présentes dans les sols de prairie, une seule le tolère ; au contraire, les *Penicillium* présents en forêt ou dans les deux types d'habitats sont souvent tolérants et, parfois même, leur croissance est stimulée sur milieu au tannin additionné de glucose.

Mais JACKSON (1965a) trouve dans les prairies de Nouvelle-Zélande des espèces bien différentes (*Fusarium*, *Cylindrocarpon*, *Gliocladium*, *Coniothyrium*) qui supportent de fortes concentrations de divers tannins.

III. — CONSTITUANTS HYDROPHOBES

Nous y trouverons les lipides, les cires, la cutine, la subérine et enfin, les hydrocarbures depuis le méthane jusqu'aux huiles de pétrole et aux paraffines que l'on peut rencontrer dans le sol des régions pétrolifères ou au voisinage des oléoducs.

1° On envisagera d'abord les **lipides** proprement dits qui sont les glycérides et diverses substances voisines caractéristiques des tissus de protection des végétaux supérieurs : cires, cutine et subérine. Les représentants de ce deuxième groupe paraissent résulter de la condensation par estérification de molécules d'acides-alcools en C_{16} à C_{18} et cutines et subérines se distinguent les unes des autres par leur résistance inégale à la saponification et par leur localisation dans les tissus.

Les premières se rencontrent dans la cuticule recouvrant l'épiderme des végétaux supérieurs ; la subérine est disposée en minces lames intercalées entre les différentes couches de la paroi des cellules du liège.

De nombreux micro-organismes du sol produisent des lipases capables d'hydrolyser les lipides en donnant du glycérol, qui est rapidement minéralisé, et des acides gras.

2° La dégradation de la **cutine** a été étudiée depuis peu et semble largement assurée ; elle pourrait commencer au niveau de la phyllosphère où existent des Levures actives (*Rhodotorula*, *Cryptococcus*) et se poursuivre dans les sols sous l'influence de certaines Bactéries, des Mucorales et de divers *Penicillium*. Sous l'action d'une cutine-estérase se forment des acides gras libres. La dégradation de la cutine est cependant lente et se trouve accélérée en présence de sucres et de sources d'azote (HEINEN et DE VRIES, 1966). La décomposition dans le sol de cuticules isolées est effective après trois à huit mois et commence au niveau de la cellulose, puis la cutine elle-même est détruite par couches successives sous l'influence d'enzymes extracellulaires produites, semble-t-il, par un nombre élevé de micro-organismes telluriques. L'activité est importante dans une terre de jardin, très ralentie dans les sols sableux et pauvres.

On se rappellera encore que l'existence d'une cuticule bien développée sur les feuilles tend à ralentir la vitesse de dégradation de la litière et le lessivage de ses constituants solubles.

3° L'expérience montre que, dans la nature, les écorces des arbres persistent plus ou moins longtemps sans altérations visibles, aussi bien sur les troncs abattus que dans la litière. L'écorce a une structure complexe et comprend des tissus conducteurs âgés et morts alternant avec des lames de liège. La cellulose en représente environ 20 %, mais se trouve accompagnée d'une plus ou moins grande quantité de tannins tandis que la **subérine** s'y rencontre à des taux faibles en général (2 à 9 %), mais son rôle est important en raison de son imperméabilité qui arrête la diffusion des enzymes solubles, réduit les possibilités d'imbibition et protège ainsi les tissus voisins. Cependant, la dislocation spontanée de l'écorce rend ces derniers disponibles tandis que

les lames liégeuses s'isolent progressivement. Quant au sort de la subérine elle-même, il est mal connu.

Ensemble, les fractions hydrophobes extraites par l'alcool-benzène représentent un très faible pourcentage des débris végétaux de l'ordre de quelques pour cent (par exemple, 2 % au plus de la matière sèche chez les Graminées), mais ils sont plus abondants chez certains micro-organismes qui en renferment parfois plus de 10 %. En principe, les acides gras libérés par l'hydrolyse des lipides, des cires et des cutines sont utilisables comme aliments énergétiques et donc minéralisables, mais leur dégradation dans les sols paraît lente et limitée à des milieux largement aérés et cependant assez humides. De plus, les acides gras semblent être incorporés, après transformation partielle, aux lipides microbiens, de sorte qu'ils s'accumulent dans l'humus où leur teneur peut dépasser 10 %. C'est le cas, entre autres, dans les sols oligotrophes, où l'activité biologique est faible et où la végétation, à tendance sclérophylle, apporte en outre des quantités appréciables de cires et cutine. Au contraire, dans les sols minéraux, elle serait de l'ordre de 0,2 % seulement de la matière organique.

Les hydrocarbures. — Des hydrocarbures à grosses molécules sont apportés au sol par les pétroles au voisinage des puits et des canalisations ou par les traitements phytosanitaires utilisant des suspensions huileuses. D'autre part, du méthane accompagné d'une faible quantité de ses homologues en C_2 , C_3 et même jusqu'à C_5 apparaît dans de nombreux sols à la suite de fermentations anaérobies. Ces carbures légers peuvent aussi provenir des nappes pétrolifères par diffusion à travers les sédiments qui recouvrent celles-ci.

De nombreux travaux ont été consacrés à l'action des micro-organismes sur ces produits, sur les carbures aromatiques et aussi sur les détergents synthétiques. On sait que ces derniers sont des dérivés sulfonés de structures variables dont certains sont extrêmement résistants à la biodégradation de sorte qu'ils s'accumulent dans les eaux usées et, à partir de celles-ci, dans les sols.

Nous parlerons brièvement de ces travaux qui ont été résumés dans le travail fondamental de FUHS (1961) et plus récemment, dans les revues de BRISBANE et LADD (1965) et de TRECCANI (1965), pour les dérivés cycliques.

1° Les carbures légers. — Le méthane occupe une place à part puisqu'il s'agit d'un composé en C_1 dont le métabolisme est, pour cette raison, très particulier. Il est utilisé par un petit nombre de micro-organismes spécialisés dont le plus connu est *Pseudomonas methanica*. Ce dernier n'utilise, comme source de carbone, que le méthane et accessoirement le méthanol ; ces deux corps sont également ses seules sources d'énergie.

Cependant, en présence de méthane, des phénomènes de co-oxydation sont possibles et permettent la dégradation des homologues en C_2 à C_4 .

Ps. methanica est très répandu dans les rizières, les vases des étangs, les fumiers, les sols horticoles qui sont le siège d'une production de méthane en profondeur, dans des conditions d'anaérobiose. Le carbure est alors oxydé dans les horizons supérieurs, là où

la tension d'oxygène est suffisante, ce qui peut être réalisé pour des valeurs très inférieures à la normale. Les substances organiques sont inhibitrices *in vitro* où la meilleure source d'azote paraît être le nitrate.

Les autres hydrocarbures légers sont attaqués soit par des Bactéries banales (*Pseudomonas fluorescens*, *Ps. aeruginosa*) soit par des formes spécialisées dont certaines utilisent également le méthane (*Ps. propanica*, *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Micromonospora*, *Streptomyces*) et qui poussent mal ou pas du tout sur les milieux ordinaires. Les micro-organismes de ce groupe paraissent rares dans les tourbières et plus répandus dans les sols normaux jusqu'à des profondeurs atteignant un mètre.

Dans les régions pétrolifères, ils deviennent prépondérants à des profondeurs de 2 à 3 mètres et plus, ce qui avait permis d'envisager une méthode biologique de détection des gisements ; mais elle est aujourd'hui dépassée par des méthodes chimiques plus sensibles (cf. KUZNETSOV et coll., 1963).

2° Les hydrocarbures à grosses molécules. — Ils semblent plus fragiles et sont attaqués par des micro-organismes variés et très répandus (*Pseudomonas*, *Micrococcus* Gram+ et Gram-, *Bacillus*, Actinomycètes divers, Levures et Champignons filamenteux).

TABLEAU XXIX. — INFLUENCE DU FUEL SUR LA MICROFLORE D'UN SOL FORESTIER (d'après STEUBING, 1967)

PROFONDEUR (cm)	0-10		10-20		20-30		40-50	
	T	F	T	F	T	F	T	F
Bactéries (a)	80	180	110	60	40	40	30	20
Azotobacter (c)	15	7	25	3	12	10	10	10
Mycobactéries (a)	8	18	5	11	2	5	2	12
Cellulolytiques (b)	10	2	3	3	4	2	3	2
Champignons (d)	12	16	5	9	5	5	3	3
Algues (c)	28	23	42	13	30	7	18	7

(a) En millions.

(b) En milliers.

(c) En % de grains de terre positifs.

(d) En dizaines de mille.

(T = témoin ; F = traité)

Leurs actions s'exercent sur des composés variables suivant les espèces et les souches. Elles consistent en oxydations en bout de chaîne conduisant à l'alcool puis à l'acide gras correspondant ou bien à un acide à chaîne plus courte. On est ainsi ramené au cas tout à fait classique de la dégradation des acides gras par β -oxydation.

Quant aux carbures à chaînes ramifiées, ils sont d'autant plus résistants que leurs substituants sont plus rapprochés les uns des autres et souvent ils sont absolument récalcitrants (cas de certains détergents).

Enfin, les hydrocarbures aromatiques (benzène, toluène, xylène) sont attaqués seulement par un petit nombre de micro-organismes, variables suivant la nature du produit et capables d'ouvrir le cycle après l'avoir oxydé en diphénol.

La dégradation des hydrocarbures est plus ou moins facile suivant leur composition chimique, leur consistance, leur solubilité, leur toxicité et enfin leur concentration et leur répartition dans le sol.

Elle est favorisée par des températures assez élevées (optimum 25 à 40 °C) et par la présence d'oxygène sous tension plus ou moins réduite, mais non pas nulle. On sait mal si les nitrates ou les sulfates permettent son déroulement en anaérobiose, mais il semble que les alcools, acides ou aldéhydes gras, à l'exclusion des carbures, puissent déterminer une réduction plus ou moins importante des nitrates du sol.

Lorsqu'on épand subitement une quantité importante d'hydrocarbures sur un sol normal, les propriétés bactériostatiques plus ou moins spécifiques de ces produits exercent une action dépressive sur la microflore (tableau XXIX) ; Bactéries, Algues et Champignons sont décimés, en particulier les *Azotobacter* et les germes cellulolytiques, tandis que la nitrification est très réduite. Puis les espèces susceptibles de s'adapter prolifèrent, en particulier les Mycobactéries ; le dégagement de CO₂, l'ammonification, l'activité déshydrogénasique et le nombre de germes totaux peuvent même dépasser leurs valeurs avant traitement (STEUBING, 1967).

CHAPITRE III

CYCLE DE L'AZOTE

Sous le terme de cycle de l'azote ⁽¹⁾, on désigne l'ensemble des transformations que subit l'azote dans la biosphère.

Ces transformations (fig. 30) — dont les plus importantes sont de nature microbienne — jouent un rôle de premier ordre sur le plan agronomique, car elles régissent d'une part les gains et les pertes du sol en azote, d'autre part la teneur du sol en formes assimilables par les plantes.

Avant de passer à l'étude détaillée des différents types de transformations de nature microbienne, nous donnons ci-dessous un tableau général des divers processus impliqués ⁽²⁾.

1° Processus régissant les gains et les pertes d'azote du sol

a) *Processus induisant un enrichissement du sol en azote.* — On distingue deux types de processus suivant leur nature :

1° PROCESSUS DE NATURE MICROBIENNE

— fixation d'azote atmosphérique par les micro-organismes fixateurs vivant en symbiose avec des plantes supérieures appartenant essentiellement, mais non exclusivement, à la famille des Légumineuses ;

— fixation d'azote atmosphérique par les micro-organismes fixateurs libres, c'est-à-dire non symbiotiques.

2° PROCESSUS DE NATURE NON MICROBIENNE

- apport par les eaux météoriques et les eaux d'irrigation ;
- adsorption de l'ammoniac atmosphérique ;

(1) L'utilisation du terme de *cycle* consacré par l'usage implique une interdépendance étroite entre les différentes transformations. Or, cette interdépendance est souvent très lâche ; c'est pourquoi certains auteurs, tels que CAMPBELL et LEES (1967), sont hostiles à l'emploi du mot *cycle*.

(2) Les processus de nature non microbienne seront évoqués plus longuement page 228.

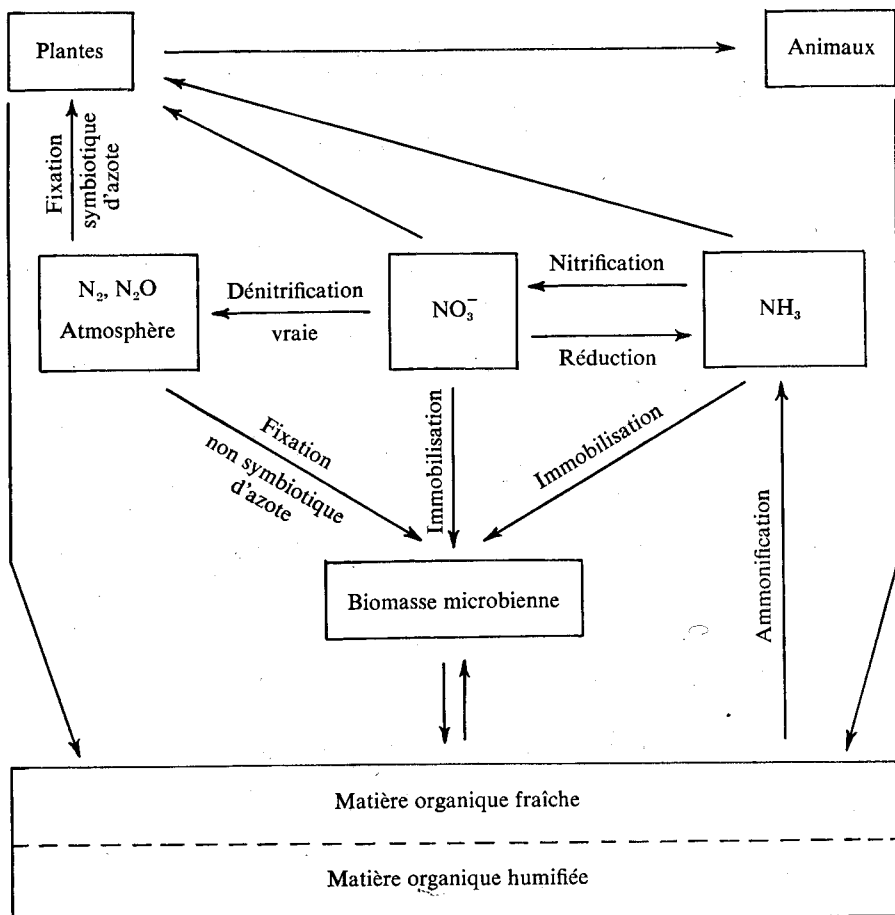


FIG. 30. — Transformations biologiques de l'azote dans le sol.

— apport par les engrais et semences.

Le retour au sol de l'azote avec les résidus végétaux aériens (litières forestières, enfouissements d'engrais verts, par exemple) ou souterrains (racines) ne constitue pas, en général, un enrichissement, mais une restitution au sol de l'azote qui y a été puisé par les plantes.

b) Processus induisant un appauvrissement du sol en azote :

1° PROCESSUS DE NATURE MICROBIENNE

— dénitrification.

2° PROCESSUS DE NATURE NON MICROBIENNE

— volatilisation de l'ammoniac ;

- réactions chimiques diverses ;
- exportation par le lessivage, l'érosion, le feu ;
- exportation par les récoltes et pertes par l'intermédiaire des plantes.

2° Processus réglant la teneur du sol en azote assimilable par la plante

A l'exception des Légumineuses et de diverses espèces fixant l'azote moléculaire en symbiose avec les micro-organismes, les plantes supérieures absorbent l'azote principalement sous forme minérale (nitrique et ammoniacale) et, très accessoirement, sous certaines formes organiques (acides aminés notamment). C'est pourquoi l'étude des processus contrôlant l'équilibre entre les formes minérales et organiques du sol présente un très grand intérêt.

a) Processus induisant un accroissement de la teneur du sol en azote minéral :

1° PROCESSUS DE NATURE MICROBIENNE OU PROCESSUS DE MINÉRALISATION

Ils comportent deux étapes :

a) *L'ammonification* : ensemble des réactions de dégradation biologique de l'azote organique du sol qui aboutissent à la libération d'azote ammoniacal ;

b) *La nitrification* : ensemble de réactions microbiennes qui consistent dans la production d'azote nitreux (nitritation ou nitrosation) et dans son oxydation ultérieure en azote nitrique (nitratation).

Il est commode d'étudier les deux processus sans chercher à dissocier les deux étapes : ammonification et nitrification. On parle alors d'*ammonitrification* ou, plus simplement, de *minéralisation de l'azote*.

2° PROCESSUS DE NATURE NON MICROBIENNE

- libération de l'azote ammoniacal fixé sur les argiles (cf. p. 207) ;
- libération d'azote minéral sous l'effet de certains facteurs physiques tels que la dessiccation.

b) Processus induisant une diminution de la teneur en azote minéral :

1° PROCESSUS DE NATURE MICROBIENNE : IMMOBILISATION OU RÉORGANISATION

Les plantes ne sont pas les seuls organismes du sol à absorber l'azote ammoniacal et nitrique. De nombreux micro-organismes telluriques utilisent aussi les formes minérales et ils exercent vis-à-vis des plantes une concurrence très vive à ce point de vue, cette concurrence étant d'autant plus intense qu'ils disposent d'un substrat carboné plus abondant. L'absorption de l'azote minéral par les micro-organismes est désignée sous le terme d'*immobilisation* ou sous celui de *réorganisation* (cf. p. 211).

2° PROCESSUS DE NATURE NON MICROBIENNE : RÉVERSION NON BIOLOGIQUE DE L'AZOTE MINÉRAL (cf. p. 196).

Processus nets et processus bruts. — Dans le sol, les différentes transformations de l'azote se déroulent simultanément. Lorsqu'il s'agit de processus agissant en sens contraire, cette simultanéité fait que les dosages chimiques des différentes formes d'azote effectués à des dates successives permettent seulement d'apprécier l'effet

net de ces processus. Ainsi, l'évaluation de la variation de la teneur du sol en azote minéral ne renseigne pas sur la *minéralisation brute* (ou réelle) mais sur la *minéralisation nette*, qui n'est autre que la résultante de la minéralisation brute et de processus divers : immobilisation essentiellement, mais aussi réversion, dénitrification, pertes par volatilisation, etc. Il est nécessaire de faire appel aux méthodes isotopiques pour évaluer l'importance des *processus bruts*. Cette notion s'applique non seulement à l'ammonification, à la nitrification, mais aussi à d'autres processus tels que la fixation d'azote ou la minéralisation du soufre.

Pour chacun des processus microbiens impliqués dans le cycle de l'azote, nous indiquerons très brièvement les grandes lignes des mécanismes biochimiques correspondants. Nous examinerons ensuite en détail l'influence des principaux facteurs de l'environnement en nous plaçant soit à un point de vue autécologique, c'est-à-dire en étudiant le comportement, vis-à-vis de ces facteurs, de chacun des micro-organismes responsables considérés isolément, soit à un point de vue synécologique, c'est-à-dire en étudiant l'influence de ces mêmes facteurs sur le *résultat global de l'activité* de l'ensemble des communautés microbiennes impliquées dans un processus donné.

A. — LA FIXATION NON SYMBIOTIQUE DE L'AZOTE MOLÉCULAIRE

I. — APERÇU SUR LA BIOCHIMIE DE LA FIXATION DE L'AZOTE MOLÉCULAIRE

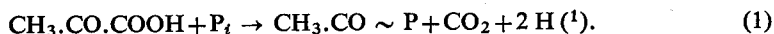
L'intérêt majeur de l'étude des mécanismes de fixation biologique de l'azote moléculaire réside dans le fait que cet élément, qui est chimiquement inerte dans les conditions normales de température et de pression, peut être activé et intégré rapidement dans des combinaisons organiques complexes par des processus biochimiques particuliers. Pendant longtemps, l'étude de ces mécanismes a été handicapée par le fait que la fixation d'azote est associée étroitement au métabolisme général des cellules et qu'il est difficile de dissocier les différentes chaînes métaboliques. Mais, depuis 1960, l'utilisation d'extraits acellulaires a permis de faire progresser très sensiblement nos connaissances dans ce domaine. On consultera, à ce sujet, les revues récentes de W. D. P. STEWART (1966), SIRONVAL et BONNIER (1967), LAPORTE et POURRIOT (1967), CAMPBELL et LEES (1967).

1° Etapes initiales de la fixation

Les premières étapes font intervenir simultanément a) une source de pouvoir réducteur, b) une source d'énergie, c) un complexe enzymatique comprenant une hydrogénase et une nitrogénase.

a) **Une source de pouvoir réducteur.** — La fixation microbienne de l'azote moléculaire est essentiellement un processus de réduction. Il met donc en œuvre une ou des substances réductrices : acide pyruvique, acide α -cétoglutarique, hydrogène moléculaire, par exemple. Chez les organismes photosynthétiques, où l'on constate souvent, mais pas toujours, l'existence d'une relation étroite entre la photosynthèse et la fixation, on a émis l'hypothèse d'une photoréduction de l'azote.

L'acide pyruvique, qui peut provenir, par exemple, de la photosynthèse ou de la dégradation d'hydrates de carbone exogènes, fournit, au cours d'une réaction phosphoroclastique très importante, d'une part, le pouvoir réducteur (2 H), d'autre part, de l'acétyl-phosphate qui sert à la synthèse de l'adénosine-triphosphate (ATP) :



b) **Une source d'énergie.** — L'adénosine-triphosphate (ATP) est indispensable à la fixation de l'azote moléculaire. L'ATP provient *pro parte* de réactions de synthèse à partir de l'acétyl-phosphate formé au cours du clivage phosphoroclastique de l'acide pyruvique :



c) **Un complexe enzymatique comportant une hydrogénase et une nitrogénase.** — Dans les extraits acellulaires de Bactéries ou de Cyanophycées, on distingue deux fractions, dont aucune ne peut fixer l'azote séparément, mais qui, réunies et en présence de substrats convenables, présentent une activité fixatrice certaine.

La première fraction, qui a reçu le nom de *système donateur d'hydrogène* (hydrogen donating system : HDS), renferme une *hydrogénase* et des enzymes catalysant la réaction phosphoroclastique (1). La deuxième fraction, qui a reçu le nom de *système activateur de l'azote* (nitrogen activating system : NAS), renferme une *nitrogénase* (N-ase), enzyme qui catalyse la réduction de l'azote.

L'hydrogène activé par l'hydrogénase est orienté vers la nitrogénase par un transporteur d'hydrogène qui souvent, mais pas toujours, est la ferrédoxine, protéine de

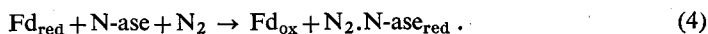
(1) P_i = phosphore minéral (phosphore inorganique).

La présence dans le composé phosphorylé ($\text{CH}_3\text{CO} \sim \text{P}$) d'une liaison particulièrement labile et riche en énergie mettant en jeu le groupe phosphate est symbolisée par le signe $\sim$. Rappelons que le symbole H ne représente pas un atome d'hydrogène, mais la somme, de charge électrique nulle, d'un proton (H^+) et d'un électron (e).

faible poids moléculaire qui peut passer de façon réversible de l'état oxydé Fd_{ox} à l'état réduit Fd_{red} :



L'azote moléculaire est activé par la nitrogénase (N-ase) et le complexe nitrogénase et azote est réduit par le pouvoir réducteur de la ferrédoxine :



Le complexe réduit accepte l'ATP de la réaction (2) et de l'ammoniac est libéré :



Le schéma (fig. 31) établi d'après les travaux de MORTENSON (1964) fait bien ressortir l'intervention, dans le mécanisme de fixation, de la substance réductrice (source du pouvoir réducteur), de l'ATP et du complexe enzymatique hydrogénase + nitrogénase.

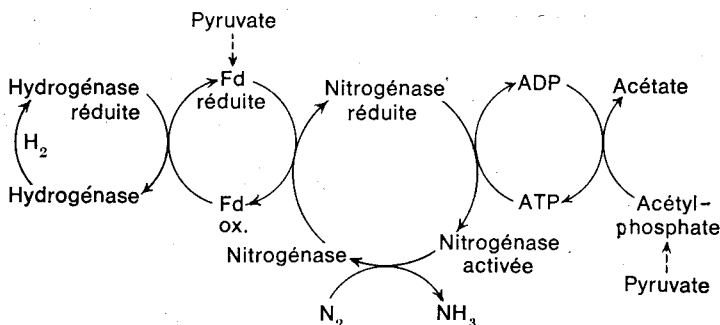
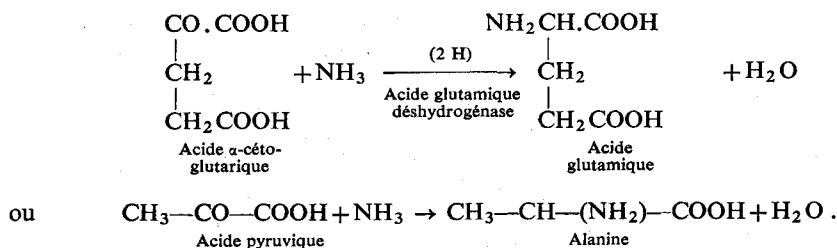


FIG. 31. — Mécanisme de la fixation de l'azote (MORTENSON, 1964).

2° Etapes finales de la fixation

L'ammoniac formé en (5) se combine avec des molécules carbonées pour donner naissance à des amino-acides suivant des réactions du type suivant :



II. — AUTÉCOLOGIE DES MICRO-ORGANISMES FIXATEURS D'AZOTE NON SYMBIOTIQUES

Pendant longtemps, on a admis que la liste des micro-organismes responsables de la fixation de l'azote atmosphérique se limitait : 1° aux Bactéries chimio-organotrophes aérobies des genres *Azotobacter* et *Beijerinckia* ou anaérobies du genre *Clostridium*, 2° à des micro-organismes photolithotrophes appartenant au groupe des Bactéries photosynthétiques et au groupe des Cyanophycées. Actuellement, on connaît un nombre beaucoup plus élevé de micro-organismes actifs intervenant soit à l'état isolé, soit en associations synergiques.

1° *Azotobacter*

Ce micro-organisme a fait l'objet d'un nombre prodigieux de travaux dont nous ne présenterons ici que les conclusions majeures. Pour plus de détails, on se reportera à la revue récente de JENSEN (1965) et à l'ouvrage de RUBENCHIK (1960) consacré entièrement à la biologie de ce micro-organisme et à la bactérisation des semences, sujet sur lequel nous reviendrons d'ailleurs à propos des engrais microbiens. Les *Azotobacter* se présentent comme de grosses cellules en bâtonnets atteignant $2-3 \mu \times 3-6 \mu$, ovoïdes ou sphériques, souvent levuriformes, dont la taille et la morphologie varient considérablement suivant l'âge et les conditions de culture.

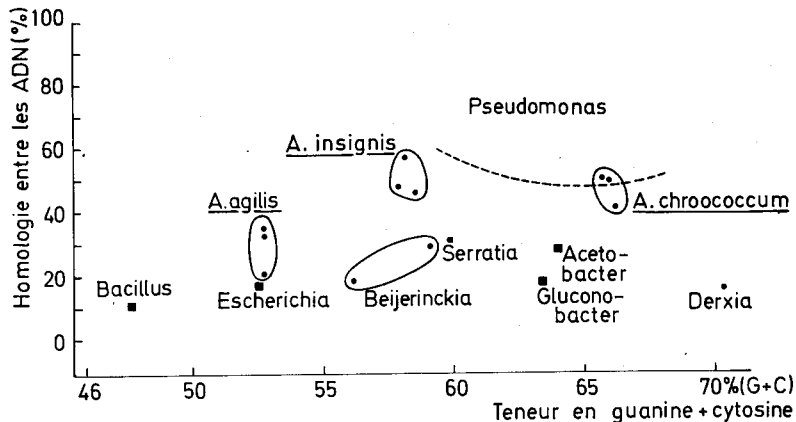


FIG. 32. — Carte fondée sur la parenté génétique faisant ressortir l'existence de trois groupes d'*Azotobacter* : groupe *A. chroococcum*, groupe *A. agilis*, groupe *Azotobacter* (syn. : *Azomonas*) *insignis*. Sur la carte, on a fait figurer la limite approximative du genre *Pseudomonas* (trait interrompu) ainsi que l'emplacement d'une ou deux souches de *Beijerinckia*, *Derxia*, *Escherichia*, *Acetobacter*, *Gluconobacter*, *Bacillus*, *Serratia* (DE LEY et PARK, 1966).

a) **Systématique du genre *Azotobacter* sensu lato.** — 1° **Classification de JENSEN.** — A l'intérieur du genre *Azotobacter*, rangé avec le genre *Beijerinckia* dans la famille des Azotobactériacées, on a décrit un grand nombre d'espèces, qui ont été rassemblées en six groupes en fonction de la formation de microkystes (formes de repos immobiles à coque épaisse qui, en germant, peuvent redonner des formes jeunes), de la mobilité et de la production de pigments (NORRIS, 1959 ; JENSEN, 1954, 1965).

1° **Microkystes : *Azotobacter*.**

a) Mobilité par flagelles latéraux :

- production d'un pigment brun foncé insoluble : *A. chroococcum* ;
- production d'un pigment soluble verdâtre fluorescent : *A. vinelandii*.

b) Immobilité. Production d'un pigment jaunâtre insoluble : *A. beijerinckii*.

2° **Pas de microkystes : *Azotobacter* (= *Azomonas*).**

a) Mobilité par flagelles latéraux : *A. agilis*.

b) Mobilité par flagelles polaires :

- grosses cellules ovoïdes : *A. insignis* ;
- cellules sphériques ou ovoïdes de taille variable : *A. macrocytogenes*.

2° **Classification de DE LEY et PARK.** — Se fondant sur certaines caractéristiques de l'ADN des différents *Azotobacter* (teneur en guanine et cytosine et homologie avec l'ADN d'une souche de référence, ici souche de *Pseudomonas*), DE LEY et PARK (1966) ont ramené à trois le nombre de ces groupes (fig. 32).

Premier groupe : *A. chroococcum-beijerinckii-vinelandii*, à forte teneur en guanine et cytosine (66 %) ; nom générique proposé : *Azotobacter*.

Deuxième groupe : *A. agilis*, à faible teneur en guanine et cytosine (53 %) ; nom générique proposé : *Azotococcus*.

Troisième groupe : *A. insignis-macrocytogenes*, dont la teneur en guanine et cytosine est intermédiaire (57-58 %). Ce groupe se distingue des autres par la présence de flagelles polaires ; nom générique proposé : *Azomonas*.

La classification de DE LEY et PARK n'est pas sans rappeler la classification de JENSEN, dont elle constitue une simplification et à laquelle elle donne une base plus solide.

Une nouvelle espèce, *Azotobacter paspali*, vient d'être isolée par DÖBEREINER (1966) dans le rhizoplan de *Paspalum notatum*. Il est encore trop tôt pour préciser le groupe auquel elle se rattache.

b) **Fixation de l'azote chez les *Azotobacter*.** — Le rendement de fixation, c'est-à-dire le rapport du poids d'azote fixé au poids d'hydrate de carbone consommé, varie en fonction des souches et des conditions de culture entre 1 et 2 % (1). L'ionisation

(1) On exprime aussi ce rendement en poids d'azote fixé par rapport au poids de carbone organique consommé (POCHON et DE BARJAC, 1958).

de l'azote par rayonnement UV ou β l'accroît très sensiblement (ZACHARIAS, 1963).

La vitesse de fixation varie aussi considérablement d'une souche à l'autre (POCHON et DE BARIAC, 1958). Dans les conditions optimales (ALEXANDER, 1961), la fixation peut atteindre 105 mg N/100 ml de culture en trois jours avec *A. vinelandii*; mais, bien souvent, la vitesse est nettement inférieure; citons, par exemple, les résultats de PAUL et NEWTON (1961), qui observent en deux jours une fixation allant de 3,5 à 21,2 mg N/100 ml de culture avec trois souches d'*A. chroococcum*. Ces chiffres ne présentent d'ailleurs qu'un intérêt limité car leur extrapolation au sol est impossible en raison de l'interférence des facteurs de l'environnement de nature chimique, physique ou biologique qui peuvent agir simultanément et dont on ne connaît pas l'importance relative.

c) **Facteurs écologiques de nature chimique et physique.** — 1° **Composés carbonés métabolisables.** — La présence de composés carbonés métabolisables dans le sol est la condition *sine qua non* du développement des *Azotobacter*. Ce sont en effet des micro-organismes chimio-organotrophes, qui doivent donc disposer de carbone organique, comme source d'énergie et comme matériau de base pour les synthèses protoplasmiques. *In vitro*, l'*Azotobacter* peut utiliser une grande variété de composés: depuis les composés à deux carbones, comme l'éthanol ou l'acétate, jusqu'aux composés plus complexes: acides aliphatiques, mono-, di-, polyalcools (exemple, mannitol), mono- et dihexoses (très rarement des pentoses), amidon, certains composés aromatiques (exemple, acide benzoïque). Dans leur ensemble, les *Azotobacter sensu stricto* utilisent une gamme de composés plus large que ne le font les *Azomonas* (JENSEN, 1965). En culture pure, les *Azotobacter* sont incapables de métaboliser la cellulose, les hémicelluloses, la matière organique humifiée. Dans le sol, on pense que l'*Azotobacter* se développe aux dépens de produits intermédiaires ou finals de dégradation des substances carbonées par des micro-organismes chimio-organotrophes banals avec lesquels il vit en association: on a établi en particulier l'existence d'associations, entre les *Azotobacter* et des micro-organismes cellulolytiques (cf. p. 682).

Certaines formes de matière organique ou certains produits de dégradation de la matière organique préexistant dans le sol ou incorporée spontanément ou artificiellement peuvent nuire au développement de l'*Azotobacter*: c'est ainsi que l'incubation de ce micro-organisme en présence de divers composts aboutit à son élimination. Il est vraisemblable que, dans ces conditions, apparaissent des substances toxiques ou des interactions de nature antagoniste.

2° **Composés azotés.** — Alors que les *Azotobacter* peuvent utiliser une large gamme de composés carbonés, ils s'avèrent au contraire incapables de métaboliser de nombreux composés azotés à l'exception d'une part de l'azote atmosphérique, d'autre part des composés suivants: ammoniacque, urée, quelques acides aminés simples et souvent nitrates, nitrites.

La présence d'azote combiné dans le milieu perturbe la fixation d'azote atmosphérique:

1° en présence de faibles doses d'azote combiné, il peut y avoir une stimulation de la fixation, ce phénomène apparaissant également avec d'autres micro-organismes fixateurs d'azote, tels que *Derxia gummosa* (TCHAN et JENSEN, 1963) ;

2° en présence de doses plus élevées d'azote combiné, on note une inhibition de la fixation. En conséquence, un sol où le rapport carbone métabolisable/azote minéral (azote nitrique et azote ammoniacal) est faible, sera donc *a priori* peu favorable à la fixation de l'azote par l'*Azotobacter*. Cette action dépressive de doses relativement élevées d'azote minéral sur la fixation biologique de l'azote est un phénomène général qu'on retrouve même dans le cas de la fixation symbiotique.

3° **Salure.** — L'étude du comportement des *Azotobacter* dans les sols halomorphes est compliquée par deux faits :

1° la résistance à la salure varie considérablement d'une espèce et d'une souche à l'autre : il existe des souches sensibles ; d'autres, au contraire, sont même halophiles (RUBENCHIK, 1960 ; VARGUES, 1962) ;

2° dans les sols salés, en dehors du facteur toxicité chimique, d'autres facteurs peuvent interférer : ainsi, dans certains cas, c'est la pression osmotique excessive qui doit être rendue responsable de l'élimination de l'*Azotobacter*.

Quoi qu'il en soit, on rencontre fréquemment des *Azotobacter* dans les sols salés ; on y signale même parfois des densités extrêmement élevées (cf. p. 379). La résistance au sel est liée à la pression osmotique intracellulaire. Dans les cellules des souches provenant des sols salés, celle-ci est très élevée (10 à 12 bars) contre 2,5 bars seulement dans le cas des souches provenant de sols non salés (RUBENCHIK, 1960).

4° **Teneur en P et autres éléments minéraux.** — L'*Azotobacter* est très sensible aux carences en phosphore ; c'est pourquoi sa distribution est partiellement régie par cet élément, l'acidité constituant l'autre facteur limitant majeur.

On a mis en évidence une relation linéaire entre la densité des *Azotobacter* et la teneur du sol en calcium soluble dans l'eau (KUKHARKOV, 1956). Mais les besoins en calcium de l'*Azotobacter* sont beaucoup moins grands que ses besoins en phosphore : dans le sol, l'ion Ca^{++} n'intervient pas comme facteur limitant au même titre que le phosphore. L'effet favorable du carbonate de calcium doit être attribué non pas à l'ion Ca^{++} , mais à l'élévation du pH.

Le molybdène est indispensable, à très faible dose, à la fixation ; son effet stimulant se manifeste sur le rendement et sur la vitesse de fixation.

5° **Substances toxiques.** — Le sol renferme parfois des substances toxiques vis-à-vis de l'*Azotobacter* ; ces substances sont soit de nature minérale (aluminium, sels de fer), soit de nature organique. Ces dernières, très mal connues d'ailleurs, proviennent d'exsudats racinaires, des tissus des plantes ou de produits intermédiaires ou finals de la dégradation biologique des résidus végétaux. La toxicité du sol est fréquente sous forêt (KRASILNIKOV, 1958) ; elle y est soumise à des variations saisonnières et dépend de la nature des espèces ligneuses : ainsi les sols sous Sapins s'avèrent plus toxiques

que les sols sous Bouleaux (RUBENCHIK, 1960). On pourrait incriminer certains composés phénoliques hydrosolubles provenant des feuilles (BUKATSCH et SAURIG, 1963 ; RICE, 1967). Les Lichens et les Mousses induiraient aussi une toxicité du sol vis-à-vis de l'*Azotobacter* (YEVDOKIMOVA, 1962).

6° Substances de croissance et vitamines. — De nombreuses souches d'*Azotobacter* semblent exigeantes en vitamines et facteurs de croissance, ce qui expliquerait que les numérations, effectuées en général sur milieux simples ne renfermant pas ces substances, indiquent souvent des densités inférieures aux densités réelles (DOMMERGUES et DUSAUSOY, 1966). Une hétéro-auxine, l'acide ascorbique, la vitamine B₁ (FEDOROV, 1952, cité par RUBENCHIK, 1960), la vitamine B₁₂ (KOBAYASHI et coll., 1963), stimulent la fixation.

7° pH. — Les différents auteurs sont d'accord pour admettre que le *pH optimal* se situe un peu au-dessus de la neutralité (7,2-7,6).

Le *pH minimal* varie d'une espèce et d'une souche à l'autre. Il est en moyenne de 6,0, mais peut descendre à 5,0 (JENSEN, 1965) ou même 4,8 (BLINKOV et NOVOSELOVA, 1960) ou 4,5 (RUBENCHIK, 1960).

Le *pH maximal* est de 9 à 10.

Ces pH cardinaux peuvent être décalés sous l'influence de divers facteurs écologiques (RUBENCHIK, 1960). En fait, le pourcentage des sols *Azotobacter*-positifs baisse considérablement lorsque le pH tombe en dessous de 6,0. Cette règle a été vérifiée par différents auteurs (voir POCHON et DE BARIAC, 1958). A titre d'exemple, citons l'étude récente d'ANDERSON (1962) sur 147 sols du Natal : dans la classe des pH supérieurs à 6,0, 87 % des sols sont *Azotobacter*-positifs ; dans la classe des pH compris entre 5,5 et 5,9, ce pourcentage tombe à 53 % ; dans la classe des pH inférieurs à 5,5, 21 % seulement des sols sont *Azotobacter*-positifs.

8° Humidité. — Comme les Bactéries cellulolytiques, *Azotobacter chroococcum* s'avère exigeant sur le plan hydrique. Le seuil hydrique de démarrage de la croissance d'*A. chroococcum* dans le sol se situe entre le pF 4,4 et le pF 3,6 (DOMMERGUES, 1962), alors que de nombreuses autres Bactéries, notamment les Bactéries ammonifiantes, se développent à un pF beaucoup plus élevé, supérieur à 5,0 en général. Ces exigences élevées en eau expliquent parfaitement l'effet favorable de l'irrigation sur la croissance de l'*Azotobacter* (RUBENCHIK, 1960). Si, pendant sa phase végétative, *Azotobacter chroococcum* est très exigeant en eau, de nombreuses souches présentent, par contre, pendant leur phase non végétative, une résistance remarquable à la dessiccation, grâce à la formation de kystes et vraisemblablement aussi à une pression osmotique intracellulaire élevée.

9° Oxygène. — En dehors de leur aptitude à fixer l'azote atmosphérique, les *Azotobacter* présentent une autre propriété remarquable : ils sont caractérisés par une activité respiratoire *exceptionnellement* élevée qu'on ne retrouve chez aucun autre être vivant.

Leur QO_2 (consommation d'oxygène exprimée en $\mu\text{l}/\text{mg}$ de substance cellulaire sèche/heure) est de l'ordre de 2 000 à 4 000 ; si l'on rapporte cette consommation d'oxygène à la masse d'azote cellulaire, on trouve des chiffres de l'ordre de 20 000 à 40 000 (JENSEN, 1965).

Chez les *Azotobacter*, comme chez les autres micro-organismes fixateurs d'azote aérobies, l'oxygène est indispensable au métabolisme général. Mais il ne l'est pas pour le processus de fixation lui-même ; au contraire, il est nuisible : on a démontré en effet que la nitrogénase ne fixe l'azote qu'en l'absence d'oxygène. En conséquence, l'oxygène agit d'une part en stimulant la croissance de l'*Azotobacter*, donc en accroissant le nombre des cellules susceptibles de fixer l'azote, d'autre part en diminuant le rendement de la fixation, lorsque sa pression dépasse un certain seuil. Cette influence complexe de l'oxygène semble varier suivant les souches. Ainsi, pour certaines d'entre elles, le taux de fixation de l'azote dans une atmosphère renfermant 4 % d' O_2 , est trois fois plus élevé que dans une atmosphère contenant 20 % d' O_2 (PARKER, 1954a). On a démontré que l'*Azotobacter* reste encore actif lorsque la pression partielle d'oxygène s'abaisse à 0,1 % (FIFE, 1943). Parmi les souches d'*Azotobacter* les plus tolérantes à l'anaérobiose, signalons celle que LE GALL, SENEZ et PICHINOTY (1959) ont mise en évidence dans un milieu à potentiel d'oxydo-réduction fortement négatif, où elle se développe en association avec un *Desulfovibrio* et un *Spirille*.

Dans le sol, le problème est compliqué par le fait que l'aération est d'autant moins bonne que l'humidité est plus élevée, alors que l'*Azotobacter* est à la fois exigeant en eau et en air. Il semble qu'en pratique l'*Azotobacter* s'accommode mieux d'un ralentissement des échanges gazeux que d'une diminution excessive de l'humidité ; une présomption en faveur de cette thèse résulte de ce que l'*Azotobacter* peut être plus abondant dans les sols de rizières que dans les sols homologues exondés. Ainsi, ROUQUEROL (1962) en France, VANCURA et ses collaborateurs (1965) en Egypte, trouvent dans ces sols des densités atteignant 10^5 à 10^8 unités/g de sol. Ce développement préférentiel de l'*Azotobacter* dans les sols hydromorphes pourrait aussi être lié à l'élimination, par l'humidité élevée, d'antagonistes ou le lessivage de substances toxiques (ISHIZAWA et TOYODA, 1964). Mais il ne s'agit pas d'une règle générale. En effet, la submersion peut faire régresser la population d'*Azotobacter*, qui ne retrouve son niveau maximal qu'après ressuyage (RANGASWAMI et SUBBARAJA, 1962). Le comportement variable des *Azotobacter* dans les sols hydromorphes peut s'expliquer : 1° par l'existence de souches plus ou moins aérophiles ; 2° par la variabilité des teneurs en O_2 dissous dans ces sols, certains pouvant être bien oxygénés alors que d'autres ne le sont pas.

Notons enfin que l'effet favorable du labour sur le développement de l'*Azotobacter* pourrait être attribué, au moins partiellement, à l'amélioration de la diffusion de l'air dans le sol (ANDERSON, 1962).

10° Température. — La température optimale de croissance d'*A. chroococcum* varie, semble-t-il, suivant les souches ; elle est généralement comprise entre 25 et 30 °C. La température minimale de croissance serait comprise entre 5 et 10 °C. La température maximale varie de 37 à 45 °C. Les températures cardinales peuvent être décalées

par d'autres facteurs écologiques et notamment la présence d'azote combiné. La résistance au chauffage, ou thermostabilité, est variable d'une souche à l'autre. Le gel nuit à la conservation des cultures.

11° **Argile.** — L'argile, *in vitro* tout au moins, exerce un effet favorable sur la croissance et la fixation de l'azote par l'*Azotobacter* (MACURA, 1959).

d) **Facteurs écologiques de nature microbienne.** — 1° **Compétition, antibiose, parasitisme.** — Si, d'une part, l'environnement édaphique est favorable (c'est-à-dire si le pH du sol est égal ou supérieur à 6,0-6,5, si le sol ne renferme pas de substances toxiques et si sa teneur en calcium et phosphore est convenable), et si, d'autre part, le rapport « C facilement minéralisable/N minéral » est suffisamment élevé, l'*Azotobacter* a beaucoup de chances de proliférer dans le sol non stérile, c'est-à-dire en présence d'une multitude d'autres micro-organismes, car il est doué d'un *pouvoir compétitif nutritionnel assez élevé*, qu'on ne retrouve d'ailleurs pas chez son homologue tropical, le *Beijerinckia*. Il est facile de vérifier expérimentalement cette aptitude compétitive par la technique des boîtes de terre lissée (POCHON et TARDIEUX, 1962), qui consiste : 1° à enrichir en hydrate de carbone (par exemple, du glucose) un sol dont on ajuste éventuellement le pH avec du CaCO_3 et dont on relève, si nécessaire, la teneur en P ; 2° à l'humidifier ensuite, puis à lisser la surface ; 3° à le mettre à l'incubation quelques jours. Même si la densité d'*Azotobacter* est très faible à l'origine, on assiste en général à une multiplication explosive des *Azotobacter*, qui se manifeste par l'apparition à la surface lisse du sol de très nombreuses colonies caractéristiques.

On verra ultérieurement (p. 703) que le sol renferme un nombre parfois considérable de micro-organismes antagonistes de l'*Azotobacter* : Bactéries, Actinomycètes, Champignons producteurs d'antibiotiques. Bien que ces antibiotiques soient souvent inactivés ou ne puissent agir par suite d'une diffusion restreinte, on pense cependant que, dans certains sols, l'activité de l'*Azotobacter* pourrait être handicapée par ces substances (KRASILNIKOV, 1958 ; VAN SCHREVEN, 1963a). Un même sol renferme souvent plusieurs espèces et souches d'*Azotobacter* ; on s'est posé la question de savoir si, dans ce cas, des antagonismes pourraient se développer entre ces souches. La réponse semble être négative ; mais l'accord n'est pas réalisé sur ce point.

Le parasitisme des cellules d'*Azotobacter* par des phages a été démontré en 1936 par SMALII (RUBENCHIK, 1960). Depuis, on a isolé des phages qui se sont avérés très spécifiques (MONSOUR et coll., 1955). D'après NESTORESCU (1962), les sols riches en *Azotobacter* contiennent presque toujours des phages et les souches résistant à la lyse phagique seraient très rares.

2° **Synergie.** — On a mis en évidence un grand nombre d'associations synergiques entre *Azotobacter* et des micro-organismes très divers, dont quelques-unes seront décrites rapidement lors de l'étude des associations synergiques fixatrices d'azote (p. 682). Il est probable qu'elles jouent un rôle significatif dans les sols.

e) **Influence de la végétation.** — Il est impossible d'énoncer des règles générales concernant l'effet rhizosphérique vis-à-vis des *Azotobacter*, car cet effet varie considérablement d'une espèce végétale à l'autre ; il est fonction aussi du stade végétatif et de nombreux facteurs extérieurs (nature du sol, humidité, température) qui modifient le sens des interactions entre la plante et le micro-organisme. L'effet rhizosphérique est donc soit positif, soit inexistant, soit négatif. Quel qu'en soit le sens, il est en général beaucoup plus discret que l'effet rhizosphérique vis-à-vis des autres micro-organismes (dénitrificateurs, par exemple) ; notons toutefois que les Légumineuses exercent souvent un effet positif assez marqué.

On a vu, au paragraphe consacré aux substances toxiques, que la végétation peut inhiber le développement des *Azotobacter* par libération dans le sol de substances hydrosolubles telles que certains composés phénoliques. Cette toxicité est souvent renforcée par une acidification due aux litières ou à leurs produits de décomposition.

f) **Distribution.** — La distribution des *Azotobacter* est sous la dépendance de trois caractéristiques fondamentales : leur caractère neutrophile, leur grande sensibilité aux facteurs toxiques, leurs besoins élevés en P et Ca.

1° Le caractère neutrophile et même basiphile des différentes espèces d'*Azotobacter* explique qu'il affectionne tout particulièrement les sols à complexe saturé. C'est à ce caractère neutrophile qu'il faut attribuer la prolifération des *Azotobacter* constatée après un simple chaulage de sols légèrement acides (DOMMERGUES, 1956a). Inversement, l'acidité élimine l'*Azotobacter*.

2° La grande sensibilité de l'*Azotobacter* à certains facteurs toxiques d'origine végétale (cf. p. 532) explique son absence dans des sols présentant par ailleurs un ensemble de caractéristiques très favorables, telles que richesse en Ca, P et en carbone facilement métabolisable. C'est le cas des horizons de surface de rendzines forestières, où leur densité est relativement faible (10^2 unités/g de sol) ; mais la mise en culture élimine le facteur toxique et entraîne une élévation sensible de densité (10^3 unités/g de sol). Dans le cas des sols podzoliques ou des podzols, l'absence des *Azotobacter* s'explique non seulement par l'acidité et la présence de substances toxiques d'origine végétale ou provenant du métabolisme microbien, mais aussi par la toxicité de sels de fer ou d'aluminium (KRASILNIKOV, 1958).

3° Contrairement à une tradition solidement établie, nous estimons qu'il n'existe pas de corrélation étroite entre la densité des *Azotobacter* et la fertilité potentielle ou actuelle. Nous avons, en effet, observé fréquemment de fortes densités de ce micro-organisme dans des sols inutilisables sur le plan agricole, tels que des sols vertisoliques sur marnes dans l'ouest africain ou dans le nord-ouest malgache. Dans ce cas, l'*Azotobacter* est simplement l'indicateur d'un complexe bien saturé en calcium et d'une teneur en phosphore relativement élevée.

REMARQUE. — L'expérience prouve que, dans certains sols de la zone méditerranéenne — notamment dans des sols irrigués à l'eau salée — la densité des *Azotobacter*

peut atteindre 10^5 à 10^7 germes/g de sol (BRYSSINE, 1964 ; VANCURA et coll., 1965 ; DOMMERGUES et coll., 1969a). L'origine de ces densités très élevées n'a pas encore été élucidée.

2° *Beijerinckia*

Le *Beijerinckia* est l'homologue tropical de l'*Azotobacter* (NORRIS, 1962). Découvert en 1936 aux Indes par ALSTON et décrit comme un *Azotobacter* tolérant l'acidité, ce micro-organisme a été élevé, en 1950, au rang de genre par DERX. Sa présence dans les sols tropicaux a été confirmée ultérieurement par de très nombreux auteurs (BECKING, 1961). On l'a trouvé toutefois dans quelques sols de régions tempérées : sud de l'Europe (Yougoslavie), Afrique du Sud (Nord Transvaal et région du Cap), nord de l'Inde (Himalaya), Japon (Tokyo) (BECKING, 1961 ; HILGER, 1963a), Etat d'Idaho (ANDERSON, 1966).

Les *Beijerinckia* sont des Bactéries en forme de bâtonnets pourvues de deux globules lipidiques polaires (fig. 33), d'une taille inférieure à celle des *Azotobacter*.

Leur croissance est beaucoup plus lente que celle des *Azotobacter* ; certaines espèces — notamment *B. indica* — synthétisent des quantités considérables d'un mucus polysaccharidique très tenace et élastique.

a) **Eléments de taxonomie.** — La classification des *Beijerinckia* est loin d'être au point. Parmi les plus récentes, citons celles de BECKING (1962) et HILGER (1963a, 1965). BECKING reconnaît l'existence de quatre espèces : *B. indica* (syn. *A. indicum*), *B. mobilis*, *B. lactiogenes*, *B. fluminensis*.

En fait, comme pour les *Azotobacter*, les frontières entre les espèces sont très fluctuantes ; il vaut mieux parler de groupes. Se fondant essentiellement sur la nutrition carbonée et accessoirement sur la morphologie, HILGER (1963a et 1965) distingue les trois groupes suivants :

Premier groupe : Représenté par *B. indica*, et comprenant les espèces *B. lactiogenes* et *B. mobilis*. — Dimensions : $0,5-1,5 \mu \times 1,7-3,0 \mu$. Mobile ou immobile. Peut former des enveloppes muqueuses peu apparentes, entourant une ou quelques cellules. Aspect des jeunes colonies sur milieux sans azote combiné et contenant des sucres facilement utilisables : colonies rondes, à bord régulier, plus ou moins surélevées, lisses, plus ou moins muqueuses, hyalines à opaques, parfois plissées. Formation possible de pigments, non diffusibles, dans les vieilles cultures : nombreuses nuances du brun et du rouge. Formation plus ou moins abondante de gommages dans les milieux liquides. Fixation d'azote relativement rapide.

Deuxième groupe : Représenté par *B. fluminensis*. — Dimensions : $1,1-1,5 \mu \times 3,0-3,5 \mu$. Mobile. Enveloppe muqueuse très apparente et constante, pouvant entourer de nombreuses cellules. Aspect des jeunes colonies sur milieux sans azote et contenant des sucres facilement utilisables : colonies à contour irrégulier, surélevées, rugueuses, sèches, granuleuses, dures et opaques. Production d'un pigment châtain foncé. Ne forme que peu ou pas de gommages en milieu liquide. Fixation d'azote relativement lente.

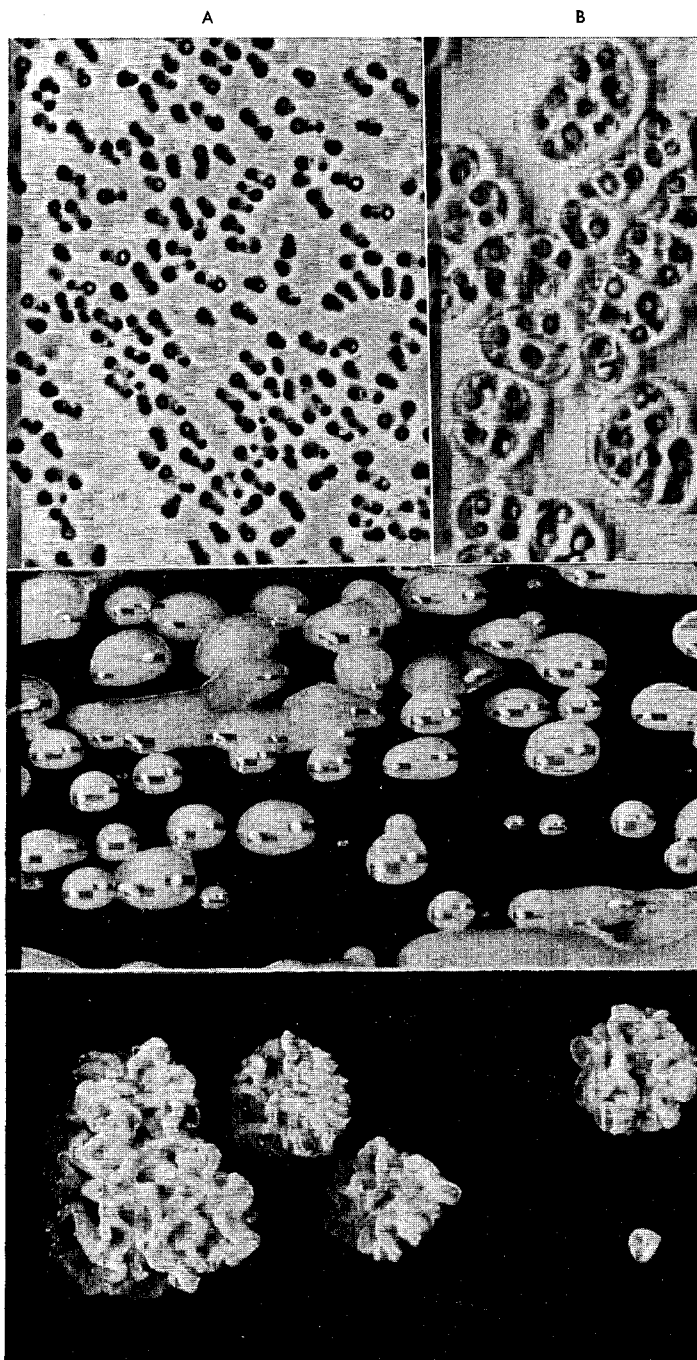


FIG. 33. — *Beijerinckia*. (A) Cellules de *Beijerinckia* sp., caractérisées par la présence d'un globule lipidique à chacune de leurs extrémités ($\times 2\,000$). (B) Cellules de *B. fluminensis*, groupées par deux ou trois dans des capsules typiques ($\times 2\,000$ environ). (C) Colonies de *B. indica*, culture de 3 semaines ($\times 2$). (D) Colonies de *B. fluminensis*, culture de 3 semaines ($\times 2$). Les clichés A, C, D sont dus à BECKING (1962). Le cliché B est dû à DOMMERGUES et MUTAFTSCHIEV (1965).

Troisième groupe : Représenté par *B. derxii*, et comprenant les espèces *B. acida* et *B. congensis*. — Dimensions : $1,5-2,0 \mu \times 3,5-4,5 \mu$. Immobile. Pas d'enveloppe muqueuse apparente. Aspect des jeunes colonies sur milieux sans azote combiné, contenant des sucres facilement utilisables : colonies rondes, à bord régulier, surélevées, lisses, muqueuses, dures, opaques, souvent irisées et plissées. Peut former un pigment jaune-vert fluorescent, diffusible dans le milieu ; pigment rose violacé sur milieux contenant des sels d'acides organiques. Production intense de gommages dans les milieux liquides. Fixation d'azote lente.

b) **Fixation d'azote chez les *Beijerinckia*.** — Le rendement de fixation est sensiblement du même ordre de grandeur que celui des *Azotobacter*. Dans de bonnes conditions de culture, il oscille entre 0,5 et 2 %. Comme pour les *Azotobacter*, il existe des variations importantes en fonction des souches et des conditions culturales. Mais la vitesse de fixation, comme la croissance, est nettement plus lente chez les *Beijerinckia* que chez les *Azotobacter*.

c) **Influence des facteurs écologiques de nature chimique et physique.** —
1° **Composés carbonés.** — Comme les *Azotobacter*, les *Beijerinckia* sont tributaires du carbone organique pour satisfaire leurs besoins énergétiques et plastiques. En culture pure, on sait qu'ils métabolisent de nombreux sucres ; mais, contrairement aux *Azotobacter*, ils n'attaquent que rarement les acides organiques.

2° **Composés azotés.** — En l'absence d'azote combiné, les *Beijerinckia* métabolisent l'azote atmosphérique.

L'influence de l'azote combiné sur la fixation ne semble pas avoir été beaucoup étudiée. On sait toutefois que certaines formes d'azote combiné inhibent la croissance de *Beijerinckia indica*, qui ne se développe pas sur milieux peptonés (DERX, 1950) ni sur milieux à l'extrait de viande (JENSEN, 1954).

3° **Éléments minéraux : Fe, Al, Ca, Mo.** — Les besoins en fer des *Beijerinckia* sont beaucoup plus élevés que ceux des *Azotobacter*. BECKING (1961) constate en effet que la fixation d'azote double quand la dose de fer passe de 0,5-0,6 ppm à 2,0-4,0 ppm, cette dernière dose correspondant à l'optimum de fixation. Chez les *Azotobacter*, la fixation optimale correspond seulement à des doses comprises entre 0,02 et 0,5 ppm de fer.

L'effet toxique de l'aluminium libre est beaucoup moins marqué chez les *Beijerinckia* que chez les *Azotobacter*.

Contrairement à ce que l'on observe pour les *Azotobacter*, le calcium ne stimule ni la croissance, ni la fixation d'azote chez les *Beijerinckia* ; on a même noté parfois un effet défavorable de cet élément (NORRIS et JENSEN, 1958).

Le molybdène est indispensable à très faible dose à la fixation d'azote par les *Beijerinckia* ; cette exigence est d'ailleurs commune à tous les autres micro-organismes fixateurs libres ou en symbiose.

4° **pH.** — Les pH cardinaux indiqués ici ont été établis à partir de cultures tamponnées ou de sols. Les résultats calculés à partir de milieux non tamponnés sont

erronés, car certaines souches de *Beijerinckia* produisent une acidification de l'ordre de plusieurs unités pH, qui fausse ainsi l'interprétation.

— *pH optimal* : en culture, il serait de l'ordre de 6,2. Dans le sol, cet optimum serait moins élevé ; il résulte, en effet, d'une étude statistique de BECKING (1961) que le pourcentage maximal de sols *Beijerinckia*-positifs (74,2 %) correspond à des pH compris entre 5,5 et 5,9.

— *pH maximal* : en milieu de culture, 7,0-7,5 ; dans les sols on ne rencontre pas de *Beijerinckia* au-delà de 7,4 (BECKING, 1961).

— *pH minimal* : en milieu de culture, 4,5 ; dans le sol, ce pH serait de l'ordre de 4,0.

Ces résultats indiquent que le *Beijerinckia* ne tolère pas seulement l'acidité : il est acidiphile (DOMMERGUES, 1952a).

5° **Humidité.** — Il résulte d'expériences effectuées dans divers sols par DÖBEREINER et ALVAHYDO (1960), que le *Beijerinckia* serait hygrophile. Ce micro-organisme est en effet favorisé électivement par rapport à la microflore aérobie dès que l'humidité du sol dépasse un peu l'humidité équivalente (fig. 34). La résistance à la dessiccation,

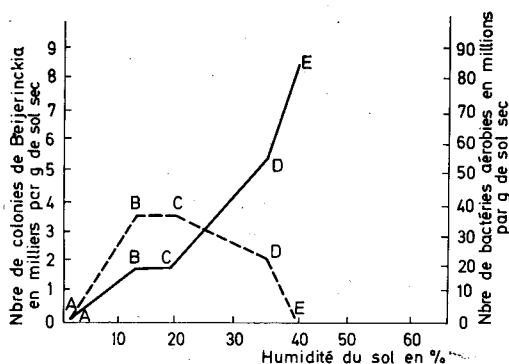


FIG. 34. — Influence de l'humidité du sol sur la densité des Bactéries aérobies et des *Beijerinckia* (DÖBEREINER et ALVAHYDO, 1960). A, sec à l'air ; B, point de flétrissement ; C, humidité équivalente ; D, saturé ; E, engorgé ; ——— *Beijerinckia* ; ———, Bactéries aérobies.

considérée comme satisfaisante par certains (TCHAN, 1953 ; BECKING, 1961), est niée par DÖBEREINER (1959), qui constate que les sols des régions sèches du nord-est du Brésil sont dépourvus de *Beijerinckia*, alors que presque tous les sols des régions humides en contiennent. Cette observation est confirmée en Afrique occidentale sous climat semi-aride, où DOMMERGUES (1963a) note que le *Beijerinckia* est localisé aux sols en bordure des cours d'eau. Des expériences précises effectuées au laboratoire par l'un de nous viennent de démontrer que diverses souches de *Beijerinckia indica* sont beaucoup plus sensibles à la dessiccation que la plupart des souches d'*Azotobacter chroococcum*.

6° **Oxygène.** — Comme l'*Azotobacter*, le *Beijerinckia* est une Bactérie aérobie. En culture liquide (non agitée) la fixation d'azote décroît fortement dès que le rapport S/V s'abaisse au-dessous de 2,5 (DOMMERGUES, 1953). Mais, dans le sol,

à l'instar de l'*Azotobacter*, le *Beijerinckia* semble supporter sans inconvénient une certaine baisse de la tension d'O₂ puisqu'il se développe bien dans des sols engorgés, donc moins bien pourvus en oxygène que des sols ressuyés (fig. 34).

7° Température. — Le *Beijerinckia* est un micro-organisme mésophile : ainsi, pour *B. fluminensis*, la température optimale de croissance est comprise entre 26 et 33 °C (HILGER, 1963a).

La résistance au chauffage est plutôt faible ; pour *B. fluminensis*, elle est de l'ordre de 60 °C pendant 1 minute (HILGER, 1963a). Le *Beijerinckia* résiste remarquablement bien au froid : il n'est pas affecté par un stockage de 20 mois à -4 °C (BECKING, 1961). On ne peut donc invoquer ce facteur pour expliquer l'absence des *Beijerinckia* dans les sols tempérés et froids.

8° Argile. — L'argile, *in vitro* tout au moins, exerce un effet favorable sur la fixation d'azote par *B. indica* ou *B. fluminensis* (MUTAFTSCHIEV, résultats non publiés).

d) Facteurs écologiques de nature microbienne. — On ignore la nature et l'importance des antagonismes vis-à-vis des *Beijerinckia*. On dispose par contre de quelques données sur la possibilité d'associations synergiques. *B. fluminensis*, qui est, semble-t-il, plus exigeant sur le plan nutritionnel que *B. indica*, bénéficierait très largement d'associations du type de celles qui seront décrites ultérieurement (p. 684).

e) Influence de la végétation. — Parmi les plantes favorables à la prolifération des *Beijerinckia*, on connaît de nombreuses espèces fourragères appartenant aux genres *Digitaria*, *Cynodon*, *Paspalum*, *Setaria* (RUSCHEL et DÖBEREINER, 1965) ainsi que la Canne à sucre ; cette dernière plante, qui a été particulièrement étudiée par DÖBEREINER (1961), exerce son action stimulante : 1° au niveau des racines [le R/S ⁽¹⁾ est de 20 pour la Canne à sucre] ; 2° par l'intermédiaire des tissus aériens (feuilles en particulier) lorsqu'ils sont incorporés au sol.

Certains types de formations végétales sont défavorables aux *Beijerinckia*. Il est bien connu (cf. par exemple : DOMMERGUES, 1953 ; HILGER, 1963a) que les *Beijerinckia* sont très peu abondants sous les formations forestières ombrophiles fermées alors que, sous prairie, ils sont beaucoup mieux représentés. Pour expliquer cette élimination, on peut invoquer divers processus encore hypothétiques : toxicité d'origine végétale, toxicité de produits de dégradation de résidus végétaux par la microflore, antagonisme, acidité excessive des sols forestiers, niveau élevé d'azote combiné.

f) Distribution. — La distribution du *Beijerinckia* est sous la dépendance des trois caractéristiques fondamentales suivantes :

1° son acidophilie ;

- 2° son comportement vis-à-vis de divers éléments minéraux, et plus spécialement

(1) La définition du rapport R/S est donnée page 550.

son indifférence et même, pour certaines souches, sa répulsion vis-à-vis du calcium, sa sobriété vis-à-vis du phosphore, sa tolérance assez grande vis-à-vis de l'aluminium et du titane, ses besoins relativement élevés en fer.

Les deux premières particularités écologiques (acidophilie et comportement vis-à-vis des éléments minéraux) expliquent que l'on rencontre très fréquemment les *Beijerinckia* dans les sols ferrallitiques, sols bien connus pour leur acidité, leur pauvreté en calcium et phosphore, leur richesse en fer, aluminium, titane. Mais, si les sols ferrallitiques constituent un habitat préférentiel, il n'est pas exclusif ; d'autres types de sol peuvent héberger des *Beijerinckia* : sols vertisoliques, sols ferrugineux tropicaux, sols non ou peu évolués, notamment alluvions actuelles ou subactuelles ou cendres volcaniques (cf. par exemple : BECKING, 1961 ; DOMMERGUES, 1963a ; STRIJDOM, 1965) ;

3° **sa sensibilité à la dessiccation.** — En zone tropicale sèche, c'est la *sensibilité à la dessiccation* qui constitue le facteur limitant majeur et qui explique la répartition ripicole de ce micro-organisme.

On notera enfin qu'on a signalé la présence de *Beijerinckia* dans la phyllosphère d'arbres et lianes tropicales en Indonésie (RUINEN, 1956) et au Ghana (MEIKLEJOHN, 1962).

3° *Derrxia*

A côté des *Beijerinckia*, certains sols tropicaux (Inde, Brésil) hébergent un autre micro-organisme fixateur, *Derrxia gummosa*, qui en diffère par des caractères morphologiques, physiologiques (JENSEN, 1965) et génétiques (DE LEY et PARK, 1966). Il s'agit d'un bâtonnet sensiblement plus long, parfois mobile, avec un flagelle polaire et dépourvu des globules lipidiques polaires typiques des *Beijerinckia*. Son pouvoir fixateur est élevé et le rendement de fixation est de l'ordre de 4 %. Il est très tolérant au pH (5,0 à 8,5).

On a décrit en 1962 une nouvelle espèce de *Derrxia* : *D. indica* (ROY et SUBIR SEN, 1962).

4° *Clostridium*

a) **Principales espèces.** — Le genre *Clostridium* renferme 93 espèces (BREED et coll., 1957). Leur nom de *Clostridium* (petit fuseau) vient de ce que les endospores, en se développant, déforment les cellules en leur donnant l'aspect d'un fuseau. Ce sont des micro-organismes *anaérobies* ou *micro-aérophiles*, très actifs sur le plan biochimique. Parmi les espèces fixatrices d'azote, citons *Clostridium butyricum*, *C. pasteurianum*, *C. butylicum*, *C. felsineum*, *C. kluyveri*, *C. beijerinckia*, *C. lactoaceto-philum*, *C. madisonii*, *C. pectinovorum*, *C. tetanomorphum*, *C. acetobutylicum*. Cette liste n'est sans doute pas exhaustive.

b) **Fixation d'azote.** — Le rendement de fixation est faible : 0,2 à 0,8 % ; mais si les conditions de culture sont favorables, il peut atteindre des valeurs plus élevées, jusqu'à 2,7 % (PARKER, 1954b ; JENSEN, 1965).

La vitesse de fixation est plus faible que celle des *Azotobacter* ; cependant, dans des conditions de cultures favorables, *Clostridium butyricum* peut fixer jusqu'à 13,6 mg N/100 ml de culture en 10 jours (ALEXANDER, 1961).

c) **Facteurs écologiques.** — Les *Clostridium* n'ont pas des exigences très précises en ce qui concerne les composés carbonés ; ils utilisent des substances très diverses : sucres simples, y compris les pentoses (contrairement aux *Azotobacter*, qui les utilisent rarement), disaccharides et polysaccharides, substances pectiques. Par contre, ils ne peuvent utiliser les acides organiques, à l'exception, semble-t-il, de l'acide lactique (JENSEN, 1965).

En ce qui concerne leur comportement vis-à-vis des facteurs de croissance, de nombreuses souches de *Clostridium* présentent des exigences particulières (PARKER, 1954b ; SKINNER, 1968). C'est ce qui explique que, pour dénombrier ou isoler les *Clostridium* fixateurs du sol, il est nécessaire d'incorporer aux milieux de culture de l'extrait de Levure et/ou de la peptone ; les milieux dépourvus d'azote de Winogradsky ne permettent de mettre en évidence qu'une fraction parfois faible des populations de *Clostridium* fixateurs.

Les *Clostridium* sont très tolérants vis-à-vis du pH puisqu'on les trouve aussi bien dans des sols à pH 4,5 que dans des sols calcaires. Comme ils sont anaérobies ou micro-aérophiles, ils sont favorisés par les fortes humidités : on les rencontre donc dans les sols submergés ; mais ils se développent aussi, dans les sols considérés comme bien aérés, dans les foyers d'anaérobiose totale ou partielle qui y existent toujours. Leurs spores leur permettent de résister à la dessiccation.

d) **Distribution.** — L'absence d'exigences écologiques bien définies explique que les *Clostridium* sont très largement répandus. Leur densité est souvent supérieure à 100 000 unités/g de sol. Mais, comme dans les cas des *Azotobacter*, les estimations pèchent souvent par défaut, car les milieux de culture utilisés pour les numérations ne renferment pas toujours les facteurs de croissance nécessaires.

5° Bactéries photosynthétiques

La découverte chez ces Bactéries d'une hydrogénase, enzyme jouant, on l'a vu, un rôle primordial dans la fixation d'azote, a incité certains auteurs à rechercher l'aptitude à fixer l'azote moléculaire chez ces micro-organismes. On a effectivement vérifié cette fixation chez *Rhodospirillum rubrum* (KAMEN et GEST, 1949) et de nombreuses autres Bactéries photosynthétiques ; mais la vitesse de fixation est faible : il faut plusieurs semaines pour fixer 10 mg N/100 ml de milieu (ALEXANDER, 1961). Ces micro-organismes anaérobies sont les homologues des Cyanophycées, de même que les *Clostridium* sont les homologues anaérobies des *Azotobacter* et *Beijerinckia*.

Les Bactéries photosynthétiques constituent plus un ensemble éco-physiologique qu'une entité taxonomique. On les subdivise en deux groupes suivant la nature de leur pigment : les Bactéries pourpres et les Bactéries vertes (Chlorobactériacées) (cf. tableau LXVII). Les Bactéries pourpres se subdivisent en deux groupes: les Thiorhodacées, qui sont des micro-organismes photosynthétiques obligatoires et qui utilisent des composés réduits du soufre comme donneurs d'électrons ; les Athiorhodacées, qui sont des micro-organismes photosynthétiques facultatifs et qui utilisent des composés organiques (acide acétique, par exemple) comme donneurs d'électrons.

Les deux exigences écologiques majeures des Bactéries photosynthétiques, qui sont d'une part l'absence d'oxygène, d'autre part la présence de lumière, font que ce sont essentiellement des micro-organismes aquatiques vivant en surface dans les eaux douces et parfois salées, dans les boues et vases (KAISER, 1966) et dans les sources sulfureuses renfermant de l'hydrogène sulfuré. Ils sont très rares dans les sols agricoles ou forestiers, où leur rôle est vraisemblablement insignifiant ; mais ils sont présents dans les sols de rizière, où ils pourraient contribuer à l'enrichissement en azote (OKUDA et YAMAGUCHI, 1956 ; MATERASSI et BALLONI, 1965), même en présence d'oxygène: en effet, OKUDA et ses collaborateurs (1961) ont démontré que *Rhodopseudomonas capsulatus* (Athiorhodacée) peut, s'il vit en association avec *A. vinelandii*, fixer l'azote en aérobiose (cf. p. 683).

6° Cyanophycées

L'aptitude à fixer l'azote semble beaucoup plus répandue chez les Cyanophycées que chez les Bactéries ; en effet, sur 40 espèces testées, environ la moitié présentent cette faculté. Les espèces fixatrices d'azote se répartissent préférentiellement dans une quinzaine de genres appartenant, pour la majeure partie, à quatre familles de Cyanophycées filamenteuses : *Nostocacées*, *Rivulariacées*, *Scytonematacées*, *Stigonematacées*. On en trouvera la liste dans la revue de LAPORTE et POURRIOT (1967).

Chez les Cyanophycées, l'aptitude à fixer l'azote moléculaire semble liée à la présence d'hétérocystes (STEWART, 1966 ; MICKELSON et coll., 1967), ces cellules particulières étant très facilement repérables au microscope optique (fig. 11) ; il en résulte que l'examen microscopique des filaments de Cyanophycées pourrait suffire à distinguer rapidement les espèces fixatrices.

a) **Fixation de l'azote.** — La vitesse de fixation est nettement inférieure à celle qui caractérise les *Azotobacter*.

Pendant leur croissance, les Cyanophycées libèrent une fraction de l'azote qu'elles ont fixé sous forme d'ammoniac, d'amides, peptides et acides aminés libres. Cette exsudation de substances azotées (qui n'est pas liée directement au processus de fixation) revêt une importance pratique certaine, car c'est ainsi que l'azote fixé est mis à la disposition des plantes supérieures et des autres micro-organismes vivant dans le même milieu sans qu'une autolyse des cellules algales soit nécessaire.

b) **Facteurs écologiques de nature chimique et physique.** — 1° **Substrat carboné.** — Contrairement aux micro-organismes hétérotrophes fixateurs d'azote, les Cyanophycées fixatrices d'azote n'ont pas besoin d'un substrat carboné organique, car elles métabolisent le carbone du CO_2 atmosphérique. Cette propriété, jointe à la faculté de fixer l'azote moléculaire, en fait les micro-organismes autotrophes les plus complets, puisqu'ils sont capables de satisfaire leurs exigences biologiques à partir de N_2 , CO_2 , H_2O et de sels minéraux (STANIER et coll., 1966).

On remarquera que certaines souches non obligatoirement photolithotrophes peuvent fixer l'azote à l'obscurité en utilisant comme source d'énergie une substance carbonée telle que le glucose ou le saccharose.

2° **Azote combiné.** — Les Cyanophycées fixatrices d'azote peuvent utiliser les nitrates et les sels ammoniacaux ainsi que diverses formes organiques de l'azote (urée, acides aminés, caséine).

Comme pour les autres micro-organismes fixateurs d'azote, la présence d'azote combiné dans le milieu de culture perturbe la fixation d'azote moléculaire ; mais il semble que l'inhibition de celle-ci par l'azote minéral soit moins marquée chez les Cyanophycées que chez les *Azotobacter*. Cette inhibition est en fait inexistante dans les sols de rizière où la teneur en azote minéral est faible, car celui-ci est absorbé par le riz au fur et à mesure de sa minéralisation (HENZELL et NORRIS, 1962). Dans le sol, et même s'il est très abondant, l'azote organique ne nuit pas à la fixation d'azote moléculaire par les Algues.

3° **Éléments minéraux.** — Le phosphore stimule très nettement la fixation d'azote ; cette stimulation est réduite en présence de potassium (BJÄLFVE, 1962). Le calcium est nécessaire à la fixation de l'azote. Le molybdène est indispensable aux Cyanophycées comme aux autres micro-organismes fixateurs d'azote.

4° **Lumière.** — La lumière est pour les Algues la source d'énergie par excellence. Elles peuvent cependant se développer à l'obscurité, si elles trouvent les sucres nécessaires à leur alimentation carbonée ; mais, souvent dans ces conditions, la fixation d'azote est fortement diminuée et parfois complètement arrêtée, car il existe une relation étroite entre la fixation d'azote et les réactions photochimiques (FAY et FOGG, 1962).

5° **pH.** — En culture pure, les Cyanophycées se comportent en micro-organismes basiphiles : leur croissance optimale est comprise entre les pH 7,0 et 8,5. Au-dessous du pH 6,0, leur activité fixatrice tend à disparaître. On sait, par exemple, que cette activité cesse chez *Nostoc muscorum* au-dessous du pH 5,7.

Dans le sol, on verra que les Cyanophycées peuvent se développer et vraisemblablement fixer l'azote à des pH inférieurs à 7,0 (p. 389).

6° **Humidité.** — Si, dans leur phase végétative, les Cyanophycées s'avèrent nettement hygrophiles, elles n'en résistent pas moins parfaitement à la dessiccation, ce qui

explique leur fréquence dans les sols des zones désertiques ou subdésertiques. L'hygro-périodisme stimule la fixation d'azote (p. 423).

c) **Facteurs écologiques de nature microbienne.** — Les Cyanophycées s'associent très volontiers entre elles ou à d'autres micro-organismes pour former des ensembles synergiques parfois très efficaces. On se reportera à ce sujet au chapitre consacré aux associations synergiques fixatrices d'azote. Des associations plus étroites (ce sont de véritables symbioses) existent même entre des Cyanophycées d'une part et des plantes supérieures ou des Champignons d'autre part.

Les Cyanophycées semblent être douées d'un pouvoir compétitif peu élevé, ce qui explique leur absence dans certains habitats où elles trouveraient pourtant des conditions de développement satisfaisantes.

d) **Conditions optimales de fixation de l'azote.** — En supposant qu'elles se trouvent placées dans des conditions favorables d'illumination et de température, les Cyanophycées sont susceptibles de fixer le maximum d'azote lorsque : 1° le sol est assez humide ou submergé ; 2° l'horizon supérieur du sol n'est pas perturbé pendant un temps assez long par des opérations culturales ; 3° la réaction du sol est voisine de la neutralité ; 4° le sol renferme suffisamment d'éléments minéraux, notamment du molybdène ; 5° le sol est pauvre en azote minéral (JENSEN, 1965).

e) **Distribution.** — Les propriétés remarquables des Cyanophycées, autotrophie vis-à-vis du C et de l'N, grande résistance à la dessiccation et, dans certains cas, aux températures élevées, en font des organismes colonisateurs d'habitats impropres au développement d'autres micro-organismes. C'est ce qui explique leur présence dans des conditions écologiques extrêmes, telles que les sols désertiques ou au contraire les sols hydromorphes, où elles ne se heurtent pas à des antagonismes de nature compétitive.

Les Cyanophycées contribuent pour une large part, semble-t-il, à l'approvisionnement en azote des sols des régions semi-arides et tropicales. Nous reviendrons bientôt sur leur rôle effectif dans le sol.

7° Autres micro-organismes fixateurs d'azote

a) **Bactéries non photosynthétiques.** — Les principales Bactéries fixatrices d'azote non photosynthétiques actuellement connues appartiennent aux genres suivants : *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Aerobacter*, *Klebsiella*, *Achromobacter*, *Pseudomonas*, *Azotomonas*, *Desulfovibrio*, *Methanobacterium* (JENSEN, 1965), cette liste étant loin d'être exhaustive.

b) **Actinomycètes.** — Des Actinomycètes telluriques appartenant au genre *Nocardia* se sont révélés capables de fixer l'azote atmosphérique (METCALFE et BROWN, 1957).

FEDOROV et KALININSKAYA (1961) ont étudié récemment un *Mycobacterium* qui est incapable de métaboliser les sucres en culture pure, mais qui, en association avec une

Bactérie dégradant les sucres, peut avoir un rendement de 2,3 à 2,7 % (rappelant celui des *Azotobacter*). Mais JENSEN (1965) considère que ce micro-organisme serait plutôt une Bactérie appartenant au groupe des *Arthrobacter*.

c) **Champignons et Levures.** — Bien que l'aptitude à fixer l'azote soit rare chez les Champignons, on l'a signalée cependant dans le genre *Pullularia* (BROWN et METCALFE, 1957) et chez diverses Levures des genres *Saccharomyces* et *Rhodotorula* (METCALFE et CHAYEN, 1954 ; NEMETH, 1959).

III. — LE PROCESSUS GLOBAL DE FIXATION NON SYMBIOTIQUE D'AZOTE DANS LE SOL

Une bonne connaissance de l'écologie de chacun des micro-organismes fixateurs d'azote est, certes, indispensable à la compréhension du problème de la fixation biologique de l'azote dans le sol. Mais les conclusions qu'il est possible de tirer des caractéristiques écologiques déterminées *in vitro* sur des cultures pures ou des modèles simplifiés ne sont, *en général*, pas directement applicables au sol lui-même en raison de l'existence d'interactions complexes entre, d'une part, les micro-organismes fixateurs d'azote eux-mêmes et, d'autre part, les autres micro-organismes telluriques, la végétation et le substratum chimique ou physique propre à chaque type pédologique. Il est donc nécessaire de faire appel à des méthodes fondées sur l'évaluation globale de la fixation dans le sol lui-même ou dans l'écosystème sol-végétation.

On est encore très mal renseigné sur la fixation biologique globale de l'azote moléculaire dans le sol. Le retard des recherches dans ce domaine est en partie d'origine méthodologique. Pendant longtemps, en effet, la seule méthode de dosage de l'azote dans le sol a été la méthode chimique (KJELDAHL ou DUMAS), qui ne peut déceler une fixation représentant moins de 4 % de l'azote préexistant. Elle est donc applicable seulement aux sols où la fixation d'azote est intense, par exemple les sols de rizière où les Cyanophycées sont très actives.

L'apparition de la méthode isotopique ⁽¹⁾ a ouvert de nouveaux horizons, car elle présente sur la méthode chimique classique deux avantages majeurs :

⁽¹⁾ Rappelons que cette méthode consiste à exposer le matériel présumé fixateur d'azote à un mélange gazeux enrichi en ¹⁵N. Après un temps variable — de l'ordre de 24 heures en général — on évalue au spectromètre de masse la teneur relative en atomes d'azote ¹⁵N. Le matériel exposé à une atmosphère normale renferme 0,365 à 0,370 % d'atomes d'azote ¹⁵N ; toute augmentation de ce pourcentage supérieure à 0,015 (pour un appareil de précision moyenne) indique une fixation significative. Pour connaître la fixation absolue, on applique la formule :

$$\text{Azote fixé} = \frac{\text{Excès isotopique dans le matériel étudié}}{\text{Excès isotopique dans le mélange gazeux}} \times \text{teneur en azote total du matériel.}$$

1° elle est très sensible puisqu'elle peut déceler une fixation 40 à 100 fois plus faible ; il en résulte que l'expérience, au lieu de porter sur des mois ou des ans, dure seulement quelques jours ;

2° elle permet de connaître avec certitude l'origine de l'azote fixé et, donc, de déterminer la *fixation brute*.

- ° En 1966, SCHÖLLHORN et BURRIS, ainsi que DILWORTH, découvrirent que le complexe enzymatique fixateur d'azote (nitrogénase) réduit l'acétylène en éthylène. D'où l'idée d'utiliser la vitesse de réduction de l'acétylène en éthylène comme test permettant l'évaluation de la fixation d'azote moléculaire dans le sol. En ce qui concerne le nombre d'électrons impliqués dans la réaction, la réduction de l'acétylène en éthylène ($\text{C}_2\text{H}_2 \xrightarrow{2e} \text{C}_2\text{H}_4$) diffère de la réduction de l'azote ($\text{N}_2 \xrightarrow{6e} 2\text{NH}_3$) par le fait que, dans le premier cas, il y a transfert de deux électrons alors que dans le deuxième cas, ce transfert porte sur six électrons. Sur le plan pratique, la méthode consiste à mettre le sol à étudier dans une enceinte fermée en contact avec une atmosphère enrichie en acétylène et à mesurer la production d'éthylène. Cette méthode présente, sur la méthode isotopique, l'avantage d'être beaucoup moins onéreuse et plus sensible ; les manipulations sont aussi moins délicates (W. D. P. STEWART et coll., 1967).

La méthode isotopique et la méthode enzymatique d'appréciation de la fixation nette de l'azote ont été utilisées essentiellement au laboratoire ; mais elles peuvent être employées aussi *in situ*. Au lieu de ramener au laboratoire les échantillons à étudier, ceux-ci sont introduits aussitôt après leur prélèvement dans des enceintes étanches qui sont replacées exactement au point de prélèvement, en prenant, bien entendu, certaines précautions. Cette méthode a été utilisée avec succès par STEWART (1967) pour mesurer la fixation d'azote dans des sols dunaires.

- ° Pour évaluer la fixation potentielle de l'azote dans le sol, on a souvent fait appel aux techniques de numération des micro-organismes fixateurs d'azote ; mais, sauf exception, les résultats ont été décevants, car les méthodes actuelles mettent en évidence une fraction seulement de la microflore responsable.

Après des considérations théoriques sur l'importance probable de la fixation biologique de l'azote dans le sol, nous donnerons un aperçu sur l'importance effective de la fixation mesurée dans quelques types de sols ; nous examinerons enfin l'effet des principaux facteurs de l'environnement.

1° Considérations générales sur l'importance effective de la fixation non symbiotique de l'azote dans le sol

Certains auteurs estiment *a priori* que la fixation non symbiotique de l'azote est négligeable ; d'autres, au contraire, considèrent qu'elle contribue largement à l'enrichissement azoté des sols.

Nous discuterons ci-dessous les trois principaux arguments invoqués par ceux qui minimisent le rôle des fixateurs non symbiotiques, à savoir :

- 1° que la densité de ces micro-organismes fixateurs est très faible ;
- 2° que leur rendement de fixation est médiocre ;
- 3° que la présence d'azote minéral dans le sol inhibe la fixation.

a) La densité des micro-organismes fixateurs non symbiotiques est très faible. — Cette affirmation est exacte si l'on s'en tient aux *Azotobacter*, dont la densité dépasse rarement 10^3 unités/g de sol dans la plupart des cas et tombe même à 10^2 dans les sols arides (SASSON, 1967) ; mais cette densité peut atteindre 10^6 dans certains sols hydromorphes (sols de rizières notamment) et dans divers autres types pédologiques (cf. p. 169). Quant aux *Clostridium*, des densités de 10^5 et 10^6 par gramme sont assez fréquentes. Il est vraisemblable d'ailleurs que les estimations des densités de ces deux Bactéries pèchent par défaut, en raison de l'imperfection des milieux utilisés pour les numérations (cf. p. 165). On notera, d'autre part, que le sol renferme, en outre, de très nombreux autres micro-organismes fixateurs associés ou non que l'on ne dénombre pas, faute de milieux appropriés (MOORE, 1963). La densité totale des micro-organismes fixateurs d'azote serait donc souvent supérieure à 10^5 et atteindrait facilement, dans certains cas, 10^6 à 10^7 unités par gramme de sol.

En fait, l'enrichissement du sol en azote n'est pas seulement fonction de la densité de la microflore fixatrice vivante, mais aussi d'autres caractéristiques de cette microflore, en particulier de son activité fixatrice (vitesse de fixation), de l'intensité d'absorption des substances azotées (acides aminés, par exemple) par les cellules microbiennes, de la durée de vie des micro-organismes fixateurs et de la vitesse à laquelle les constituants de leurs cellules mortes sont minéralisés ⁽¹⁾.

b) Le rendement de la fixation non symbiotique est médiocre. — Dans les cultures liquides faites au laboratoire, le rendement de fixation est de l'ordre de 1 %, ce qui correspond à 1 kg d'azote fixé pour 100 kg d'hydrate de carbone ou 40 kg environ de carbone organique. Une fixation d'azote de 25 kg/ha au champ nécessiterait donc

⁽¹⁾ La connaissance de la durée de vie des micro-organismes fixateurs dans le sol devrait permettre d'évaluer l'enrichissement du sol en azote par les corps microbiens. Considérons un sol en équilibre où la densité des micro-organismes fixateurs vivants est de l'ordre de 10^6 /g et où la durée de vie de ces micro-organismes est de 3,6 jours. En supposant que les micro-organismes ne réutilisent pas pour leur propre compte l'azote qu'ils ont fixé après sa libération dans le sol, on peut admettre que le sol reçoit un apport d'azote correspondant annuellement à 10^8 cellules/g. Si ces cellules, d'un volume unitaire de $2 \mu^3$, renferment 3 % d'azote (poids/volume), l'apport annuel d'azote au sol est de $10^8 \times 6 \times 10^{-14} = 6 \times 10^{-6}$ g N/g de sol, soit 15 kg N/ha, en évaluant à 2 500 t le poids de terre à l'hectare. Malheureusement, la durée de vie des micro-organismes fixateurs dans le sol est difficile à déterminer. Signalons toutefois que certains auteurs y seraient parvenus : c'est ainsi que KRASILNIKOV (1944), cité par RUBENCHIK (1960, p. 53), estime que cette durée est de l'ordre de 24 à 48 h.

la consommation d'environ une tonne de carbone organique ; cette quantité représente une fraction de substrat énergétique bien supérieure à celle qui est effectivement disponible pour les micro-organismes fixateurs, compte tenu de la concurrence de l'ensemble des autres micro-organismes telluriques. En effet, sauf exceptions (forêts tropicales, par exemple ; cf. p. 532), les apports de carbone organique au sol ne dépassent pas quelques tonnes par hectare et par an.

Dans ces conditions, pour expliquer la possibilité d'une fixation d'azote notable dans le sol, on est amené à supposer qu'interviennent *in situ* divers facteurs d'amélioration du rendement de fixation : argiles (MACURA, 1959), associations microbiennes (cf. p. 688), radiations diverses (RUBENCHIK, 1960 ; ZACHARIAS, 1963). Certains résultats expérimentaux tendent à infirmer cette hypothèse ; avec le glucose, le rendement de fixation dans un muck (sol fortement organique dérivé de tourbe) est inférieur à 1 % pour les trois traitements suivants : muck non stérile (0,06 %), muck stérile réensemencé avec *Azotobacter* (0,63 %), muck stérile réensemencé avec *Clostridium* et *Azotobacter* (0,76 %) (CHANG et KNOWLES, 1965). D'autres expériences au contraire prouvent que des associations microbiennes peuvent, à partir de certains substrats (alcool éthylique et propylique ; acide butyrique et propionique) avoir un rendement de fixation exprimé par rapport au carbone du substrat, de 1,5 à 2,0 %, soit 3 à 4 % si on l'exprime en fonction du substrat (KALININSKAYA, 1967).

Si l'approvisionnement du sol en matière organique métabolisable apparaît comme un facteur limitant indiscutable de la fixation d'azote par les micro-organismes chimio-organotrophes, il n'en est plus de même des micro-organismes photosynthétiques, et notamment des Cyanophycées, qui sont indépendants de ce facteur.

c) La fixation de l'azote est inhibée par l'azote préexistant dans le sol.

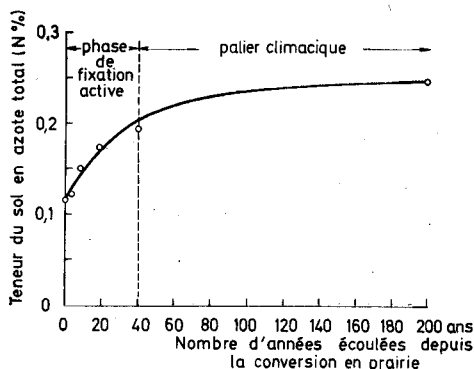
— Le taux de fixation de l'azote *in situ* est sensiblement réduit par la présence de certaines formes d'azote, notamment par l'azote minéral. C'est ce qui expliquerait que, dans leur phase d'enrichissement en azote, les sols voient leur taux de fixation diminuer (cf. *infra*). Cependant, l'effet inhibiteur de l'azote combiné sur la fixation est considérablement atténué en présence d'une microflore immobilisant activement cet azote combiné : c'est pourquoi, dans des sols enrichis en paille, l'apport de nitrate ne gêne nullement la fixation (DELWICHE et WJLER, 1956).

**2° Fixation de l'azote dans les sols ou les écosystèmes sol-végétation
(ne comportant pas d'espèces fixatrices par voie symbiotique)**

L'étude de l'édification du stock d'azote des sols, effectué à partir de sols relativement pauvres en azote à l'origine, révèle que la vitesse d'enrichissement en azote, très élevée au début, tend à se ralentir et à s'annuler quand, au bout d'un temps variable, le sol atteint un équilibre climacique (RICHARDSON, 1938 ; OLSON, 1958) (fig. 35).

Il est vraisemblable que, tant que le palier climacique du taux d'azote n'a pas été atteint, la fixation d'azote, qui est essentiellement d'origine biologique, est active. C'est

FIG. 35. — Accumulation de l'azote dans un sol cultivé de Rothamsted après sa conversion en prairie (RICHARDSON, 1938). Pendant les 40 premières années, le taux d'accumulation de l'azote — et vraisemblablement le taux de fixation biologique de l'azote — a été très élevé ; puis ce taux a tendu progressivement vers zéro. Il s'agissait d'une prairie comportant du Trèfle, donc impliquant partiellement l'intervention de la fixation symbiotique ; mais il est probable que l'allure générale de la courbe aurait été la même si la fixation non symbiotique avait été seule à intervenir.



ce qui se passe effectivement dans des sols jeunes, non évolués, très pauvres à l'origine en réserves azotées (sols dunaires, sédiments récents) ou dans des sols où ces réserves ont disparu spontanément (érosion) ou à la suite d'interventions humaines (destruction du couvert végétal pérenne arbustif ou herbacé pour la mise en culture).

Par contre, lorsque l'écosystème sol-végétation a atteint l'équilibre, l'apport d'azote par fixation est négligeable et ne fait que compenser les pertes. HILGER (1963a) émet l'hypothèse d'un mécanisme régulateur qui aurait une certaine analogie avec celui qui régit la fixation d'azote par les Légumineuses (BONNIER, 1960). Cette théorie expliquerait, partiellement tout au moins, le fait que, dans certains sols, la fixation biologique est insignifiante alors que, dans d'autres, elle est beaucoup plus importante.

Pour se faire une idée de l'ordre de grandeur du taux de fixation non symbiotique de l'azote dans le sol et pour préciser le rôle des facteurs de l'environnement sur ce processus, il apparaît nécessaire d'étudier des sols ou des écosystèmes sol-végétation placés dans leur phase de fixation active et non dans la phase correspondant au palier climacique (fig. 35). On peut classer les résultats des études effectuées à ce jour en deux groupes : celles qui concernent les sols (sols exondés et sols hydromorphes) et celles qui concernent les écosystèmes sol-végétation.

a) FIXATION DE L'AZOTE DANS LES SOLS EXONDÉS

a) **Sols cultivés.** — 1° **Expériences de laboratoire.** — Les premières expériences concernant la fixation biologique de l'azote dans le sol remontent à BERTHELOT qui, dès 1885, trouva des taux de fixation de 24 à 40 kg N/ha ⁽¹⁾ en trois mois. Depuis, de nombreux chercheurs ont évalué les taux de fixation d'azote au laboratoire : comme on

(1) Pour convertir les gains exprimés par rapport à un poids de sol en gains par rapport à une surface (ha) on admet qu'un ha de sol en place pèse 2 500 t. Ce mode d'expression a l'avantage de faciliter les comparaisons avec les résultats des observations au champ qui sont, en général, exprimées en kg N/ha.

pouvait s'y attendre, les résultats sont très variables puisqu'ils oscillent entre 0 et 500 kg N/ha/an et parfois plus (MOORE, 1966).

2° Observations au champ. — Les résultats obtenus au laboratoire sont critiquables, car les conditions expérimentales s'éloignent toujours des conditions exactes qui caractérisent les sols *in situ* et les chiffres obtenus indiquent simplement un *potentiel de fixation*. D'où l'intérêt des mesures faites *au champ*, mais celles-ci sont beaucoup plus difficiles à interpréter en raison de l'interférence de processus multiples difficiles à déterminer ou à contrôler :

- apports divers tels qu'apports par les eaux météoriques ou de percolation à travers le feuillage... (cf. p. 531) ;
- pertes par drainage, dénitrification (cf. p. 219) ;
- remontée capillaire des solutions du sol ;
- intervention directe de la végétation (cf. p. 185) ;
- redistribution de l'azote dans le profil par la végétation.

Ce dernier processus joue un rôle capital notamment dans les types de sol où l'azote migre facilement en profondeur sous forme nitrique ou organique soluble et où les plantes dotées d'un système racinaire profond (arbres et plantes arbustives notamment) concentrent l'azote à la surface du profil.

Etant donné qu'il est souvent très difficile ou même impossible de mesurer l'importance des phénomènes accompagnant la fixation biologique, les observations au champ ne permettent pas, en général, de calculer le taux de fixation brute : elles renseignent seulement sur les *gains nets* d'azote ; ceux-ci sont très variables ; nuls dans certains sols, ils peuvent atteindre dans les cas favorables 50 à 100 kg N/ha/an ou même davantage (MOORE, 1966).

b) Litières forestières. — Par leur teneur élevée en composés énergétiques, réputées pour avoir un faible C/N, les litières devraient, *a priori*, être le siège d'une fixation d'azote active, bien qu'elles renferment souvent des substances inhibitrices vis-à-vis de certains micro-organismes fixateurs tels que les *Azotobacter* (cf. p. 532). En fait, on est très mal renseigné sur l'importance de la fixation d'azote dans cet horizon particulier des sols forestiers. On rappellera les anciennes expériences d'HENRY (1904), qui mit en évidence des gains annuels allant de 0 à 39 % dans des litières placées à 60 cm au-dessus du sol. Par la suite, l'existence d'une fixation biologique dans la litière a été mise en doute par divers auteurs (Bocock, 1963). D'autres estiment qu'elle est très faible, tout au moins dans les litières pauvres en substrats facilement métabolisables (HÜSER, 1963 et 1965).

c) Cas des croûtes et nappes algales ou lichéniques dans des sols non hydromorphes. — Dans certains types de sol des régions arides et semi-arides, on observe, après la pluie, le développement de croûtes algales ou lichéniques, dont le taux de fixation a été étudié fréquemment au laboratoire (voir par exemple les études de

CAMERON et FULLER, 1960 ; ROGERS et coll., 1966). Mais on connaît mal la fixation réelle *in situ* ; elle atteindrait couramment 3 kg N/ha/an d'après TCHAN et BEADLE (1955), et pourrait s'élever jusqu'à 10 kg N/ha/an pour MAYLAND et coll. (1966).

Dans les régions tropicales humides ou semi-humides, les Algues se développent parfois en nappes fines en surface ou immédiatement en dessous de la surface de sols ne présentant aucun caractère d'hydromorphie. Ces associations algales riches en Cyano-phyccées contribuent parfois très efficacement à l'enrichissement du sol en azote : c'est ainsi que, en Inde (UTTAR PRADESH), SINGH, cité par MOORE (1966), évalue à 88 kg N/ha/75 jours la fixation algale d'azote dans un champ de Maïs recouvert par *Cylindrospermum licheniforme*.

b) FIXATION DE L'AZOTE DANS LES SOLS HYDROMORPHES (SOLS DE RIZIÈRE)

Les expériences conduites au laboratoire mettent en évidence des taux de fixation considérables : ainsi NISHIGAKI et SHIORI (1959) obtiennent, avec un sol ripicole et un sol de rizière incubés à la lumière sous une épaisseur de 10 cm, des gains correspondant respectivement à une fixation de 470 et 290 kg N/ha/65 jours. Au champ, la fixation nette est comprise entre 15 et 90 kg N/ha/an (WILLIS et GREEN, 1948 ; WATANABE et coll., 1951 ; SUBRAHMANYAN et coll., 1964).

La fixation brute est vraisemblablement plus élevée en raison de l'existence dans ces sols des pertes par volatilisation, dénitrification, lessivage. Dans les sols de rizières, la fixation d'azote est suffisamment active pour permettre la culture ininterrompue du riz pendant des siècles.

c) FIXATION DE L'AZOTE DANS LES ÉCOSYSTÈMES SOL-VÉGÉTATION

Au lieu d'évaluer les gains en azote du sol seul, on a souvent évalué les gains de l'ensemble du système constitué par le sol et la végétation, celle-ci étant, dans ce cas, bien entendu, exempte d'espèces fixant l'azote en symbiose (Légumineuses ou espèces nodulées telles que *Alnus*, *Casuarina*, etc.). Les gains observés atteignent fréquemment 30 à 40 kg N/ha/an ; des gains plus élevés, de l'ordre de 100 kg ou quelques centaines de kg/ha/an, ne sont pas exceptionnels (MOORE, 1966).

Les gains d'azote d'origine microbienne dans des écosystèmes sol-végétation dépourvus d'espèces légumineuses ou non légumineuses nodulées pourraient résulter de la fixation non symbiotique dans le sol, de la fixation non symbiotique dans la phyllosphère, de la fixation symbiotique par l'intermédiaire d'endophytes inconnus.

La fixation non symbiotique dans le sol peut dans certains cas être stimulée par l'effet rhizosphérique. En outre, les plantes exercent leur action stimulante sur la microflore fixatrice d'azote par l'intermédiaire de leurs tissus morts. Ainsi, DELWICHE et WILDER (1956) ont montré à l'aide de l'azote ^{15}N qu'un échantillon de sol non perturbé, portant encore sa végétation de pelouse vivante et photosynthétisante,

ne fixe pratiquement pas d'azote, alors qu'un échantillon identique, mais retourné, donc fortement enrichi en résidus végétaux en décomposition, fixe 13 kg N/ha en 31 jours à 21 °C.

La fixation^o au niveau de la phyllosphère a été suggérée par RUINEN (1956), qui a démontré la présence — confirmée ultérieurement par MEIKLEJOHN (1962) — de *Beijerinckia* sur les feuilles de plantes tropicales (cf. p. 544).

La fixation symbiotique d'azote par l'intermédiaire d'endophytes inconnus de nature fongique est un processus dont l'existence a été supposée par BROWN (1933) et GEL'TSER (1965). Jusqu'à présent, aucune preuve expérimentale sérieuse n'a permis d'étayer cette hypothèse.

3° Facteurs écologiques régissant le processus global de fixation non symbiotique de l'azote dans le sol

a) *Teneur du sol en substrat carboné métabolisable; rôle de la végétation.* — En dehors du cas des micro-organismes photosynthétiques, qui utilisent le carbone du CO₂ atmosphérique, les micro-organismes fixateurs d'azote ne peuvent se développer qu'en présence d'un substrat carboné organique. C'est ce qui explique que la fixation d'azote dans le sol, au-dessous de l'horizon de surface qui bénéficie des radiations lumineuses, soit étroitement liée à la présence de ce substrat carboné, que celui-ci soit directement ou indirectement métabolisable.

TABLEAU XXX. — FIXATION NON SYMBIOTIQUE DE L'AZOTE DANS QUELQUES SOLS CANADIENS EXPRIMÉE EN kg N/ha/an (KNOWLES, 1965)

SOL	APPORT GLUCOSE 1 %	TEMPÉRATURE DE 30 °C MAINTENUE CONSTANTE		RÉSULTATS CORRIGÉS COMPTE TENU DES VARIATIONS DE TEMPÉRATURE <i>in situ</i>	
		Aérobiose	Anaérobiose	Aérobiose	Anaérobiose
Limon sableux	0 +	— 162,5	148,5 343,0	— 34,6	31,7 73,0
Muck	0 +	33,0 43,7	92,0 182,0	7,0 9,3	19,8 39,0
Mull (A ₁)	0 +	— 23,2	206,0 259,0	— 5,0	44,0 55,2
Mor horizon L	0	—	3,7	—	0,8
Mor horizon F	0	—	4,2	—	0,9

Pour obtenir *au laboratoire* une fixation significative d'azote dans un échantillon de sol isolé de l'écosystème sol-plante, il est souvent nécessaire d'apporter un substrat énergétique, par exemple du glucose (DELWICHE et WIJLER, 1956) ou de la paille (EROFEEV et VOSTROV, 1964). Mais un enrichissement de cette nature s'avère inutile, si le sol renferme déjà spontanément une quantité suffisante de carbone métabolisable par la microflore fixatrice. Ainsi, sans apport complémentaire de carbone métabolisable, un limon sableux canadien est capable de fixer 31,7 kg N/ha/an et un mull (horizon A₁) peut en fixer 44,0 (tableau XXX).

Des observations effectuées *in situ* par ROUQUEROL (1965) tendent à montrer que le pouvoir fixateur du sol est très sensible à sa richesse en substrat carboné métabolisable. Dans le sol en place, ce substrat est normalement fourni à la microflore tellurique par la végétation sous forme d'exsudats racinaires, de résidus de racines ou de résidus aériens et l'on comprend facilement l'importance écologique du facteur végétation dans les processus de fixation d'azote par les micro-organismes libres chimio-organotrophes.

b) Teneur du sol en azote. — L'effet inhibiteur de l'excès d'azote minéral mis en évidence par l'étude autécologique se vérifie dans le sol ; mais il semble y être sensiblement atténué.

c) Eléments minéraux divers. — On a signalé l'accroissement de la fixation d'azote dans le sol, notamment les sols de rizière, à la suite de l'adjonction de différents éléments dont P, P et K, Ca, Mo.

d) pH. — Le chaulage des sols stimule très généralement la fixation d'azote, vraisemblablement parce que l'élévation du pH favorise le développement des micro-organismes fixateurs aussi bien dans les sols non hydromorphes (DOMMERGUES, 1956a) que dans les sols de rizière (OKUDA et YAMAGUCHI, 1956).

e) Humidité. — L'humidité optimale varie considérablement d'un type de sol à l'autre.

Il est de nombreux sols où la submersion, entraînant une anaérobiose partielle, favorise particulièrement la fixation (PARKER, 1957 ; BARROW et JENKINSON, 1962 ; CHANG et KNOWLES, 1965). Il s'agit vraisemblablement de sols équipés d'une microflore anaérobiose, semi-anaérobiose ou micro-aérophile particulièrement active. Les résultats de KNOWLES (1965) concernant notamment le cas du sol organique désigné sous le terme de muck sont très éloquentes à ce point de vue : en aérobiose, la fixation est de 7 kg N/ha/an ; en anaérobiose, elle atteint 19,8 kg N/ha/an (tableau XXX).

Par contre, certains sols forestiers à mior ou à mull présenteraient une fixation plus active à des humidités bien inférieures à la capacité de rétention (HÜSER, 1963).

L'hygroperiodisme stimule très fortement la fixation d'azote par les Algues (cf. p. 422).

f) Lumière. — La fixation d'azote par les Cyanophycées est tributaire de la lumière ; elle est donc localisée à la surface même du sol (puisque la pénétration de la lumière ne dépasse pas 1 ou 2 cm, d'après TCHAN et WHITEHOUSE, 1953) ou à la lame d'eau qui le recouvre. Souvent, dans le sol, la densité maximale d'Algues ne se trouve d'ailleurs pas à la surface même, mais à 0,5 cm ou 1,0 cm de profondeur.

B. — L'AMMONIFICATION

I. — GÉNÉRALITÉS

L'azote du sol, tout au moins dans les horizons de surface, est essentiellement sous forme organique. La fraction minérale ne représente, en général, qu'un faible pourcentage de l'azote total; son importance relative peut cependant s'accroître considérablement dans certains sols en raison de la présence d'*ammonium fixé*. On sait, en effet, depuis les travaux de CHAMINADE et DROUINEAU (1936), confirmés ultérieurement par de nombreux auteurs, que l'azote minéral existe non seulement sous forme *nitrique* ou sous forme d'*ammonium soluble* et d'*ammonium échangeable*, mais aussi sous forme d'*ammonium non échangeable*, mieux connu actuellement sous le terme d'*ammonium fixé*, les ions ammonium pénétrant dans le réseau cristallin des minéraux argileux (fig. 38). Bien souvent, la teneur des sols en ammonium fixé ne dépasse pas quelques pour cent de l'azote total. Mais il arrive que la richesse du sol en ammonium fixé, notamment dans les horizons C, atteigne des valeurs très élevées : 45 et même 75 % (NOMMIK, 1957, 1965 ; KARDOS, 1964). La fraction organique est composée essentiellement de *protéines* (34 à 50 %) et accessoirement d'*acides nucléiques* (3 à 10 %) et d'*amino-sucres* (5 à 10 %). Les *acides aminés* libres, souvent bien représentés qualitativement, ne constituent qu'une infime partie de l'azote du sol (200 à 400 parties par billion).

Les fractions non identifiées, qui correspondent grossièrement à la moitié de l'azote total, pourraient être des produits de condensation très résistants ou entreraient dans la composition de complexes avec la lignine (tableau XXXI).

TABLEAU XXXI. — FORMES DE L'AZOTE DANS LE SOL
Les pourcentages ne figurent qu'à titre indicatif ; il peut en effet exister des variations importantes autour de ces moyennes
(I. L. STEVENSON, 1964 ; VAN SCHREVEN, 1965)

Azote minéral (en général, moins de 5 % de l'azote total)	{	Azote nitrique Ammonium de la solution du sol Ammonium échangeable Ammonium non échangeable (ou ammonium fixé)	
Azote organique (en général, plus de 95 % de l'azote total)	{	Formes spontanées identifiées	{ Protéines (formes aminées) (24 à 50 %) Acides nucléiques (3 à 10 %) Amino-sucres (5 à 10 %)
		Formes spontanées non identifiées Formes introduites artificiellement : engrais azotés organiques (urée, cyanamide, etc.)	

Nous examinerons les principales étapes de l'ammonification des trois formes les plus répandues d'azote organique dans le sol : l'azote protéique, l'azote des acides nucléiques et l'azote des engrais à base de cyanamide et d'urée.

1° Ammonification des protéines (tableau XXXII)

Comme c'est le cas pour les autres macromolécules, le clivage des protéines s'effectue sous l'action des enzymes du sol ou d'enzymes extra-cellulaires élaborées par les micro-organismes. Les produits initiaux sont constitués par de longues chaînes d'acides aminés ou peptones qui, par hydrolyse enzymatique, donnent des unités plus simples : peptides et acides aminés libres. L'existence des acides aminés libres est éphémère car ils peuvent :

TABLEAU XXXII. — PRINCIPALES ÉTAPES DE LA DÉGRADATION DES PROTÉINES
AVEC INDICATION DU DEVENIR MULTIPLE DE L'AZOTE AMINÉ ET AMMONIACAL

Protéines → → Acides aminés	{	(1) Désamination microbienne → $\text{NH}_3\text{-N}$	{	(1) Nitrification → $\text{NO}_3\text{-N}$
		(2) Immobilisation		(2) Immobilisation par la microflore
		(3) Absorption par les plantes		(3) Absorption par les plantes
		(4) Adsorption sur les argiles et incorporation dans la fraction humique		(4) Adsorption sous forme échangeable ou fixation sur les argiles ou la matière organique
				(5) Immobilisation par réversion non biologique
				(6) Volatilisation

1° subir une désamination sous l'action des micro-organismes et donner ainsi naissance à de l'azote ammoniacal ; 2° être immobilisés (assimilés par la microflore) ; 3° être absorbés par les plantes ; 4° être adsorbés par les minéraux argileux ou incorporés dans la fraction humique du sol. Lors de la dégradation anaérobie des protéines (putréfaction), une fraction seulement de l'azote aminé est convertie immédiatement en azote ammoniacal. L'autre donne naissance à des composés à odeur putride (notamment des amines). Ces dernières substances s'oxydent en présence d'air en libérant de l'azote ammoniacal. La dégradation anaérobie des protéines est essentiellement le fait des *Clostridium*.

2° Ammonification des acides nucléiques

On a vu que ces substances, d'origine végétale, animale et surtout microbienne, constituent une fraction non négligeable de l'azote total (3 à 10 %). L'étude de leur dégradation biologique n'est donc pas dénuée d'intérêt pratique.

L'acide ribonucléique (ARN) et l'acide désoxyribonucléique (ADN) sont des polynucléotides, c'est-à-dire des polymères d'une unité structurale (mono-nucléotide) constituée : 1° d'une base purique ou pyrimidique ; 2° d'un sucre (ribose dans l'ARN et

c) **Engrais à ammonification progressive.** — On accorde actuellement de plus en plus d'intérêt aux engrais azotés qui, à l'instar de la matière organique du sol, libèrent progressivement l'azote minéral.

Ces engrais présentent tous les avantages des applications fractionnées ; ils s'avèrent particulièrement intéressants pour la fumure des cultures dont la consommation de l'azote est répartie sur une longue partie du cycle végétatif : prairies, pelouses, plantes arbustives, arbres. En outre, des apports élevés ne risquent pas d'endommager les plantes comme le feraient des sels ammoniacaux.

Parmi les engrais de ce type, on citera les urées-formaldéhydes utilisées depuis une vingtaine d'années (SOUBIES et GADET, 1957 ; BASARABA, 1964), ainsi que de nombreux autres composés, pour la plupart encore au stade expérimental, tel l'oxamide (OGATA et YOSHINAUCHI, 1958) (fig. 36).

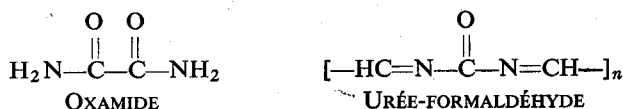
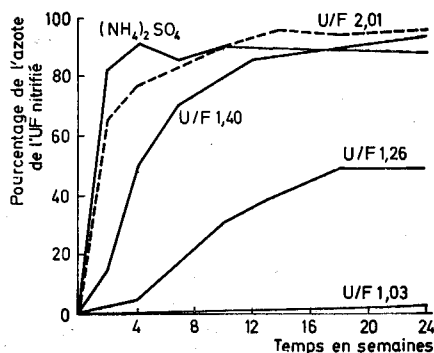


FIG. 36. — Structure moléculaire de deux engrais à ammonification progressive.

Comme l'indique la formule ci-dessus, les urées-formaldéhydes sont constituées de résidus d'urée reliés par des groupements méthylène. En augmentant la dose de formaldéhyde (F) par rapport à l'urée (U) lors de la fabrication, on obtient des produits moins solubles et à vitesse de minéralisation plus lente. D'après FULLER et CLARK (1947), l'hydrolyse des urées-formaldéhydes en ammoniac est presque exclusivement le fait des micro-organismes ou des enzymes telluriques. Parmi les micro-organismes responsables de la dégradation des urées-formaldéhydes, citons une espèce d'*Agrobacterium* mise en évidence par CORKE et ROBINSON (1966).

Lorsque les conditions édaphiques sont favorables à la nitrification, l'azote ammoniacal provenant de l'hydrolyse biologique des urées-formaldéhydes est nitrifié au fur et à mesure de sa formation. Quand le rapport U/F de l'urée-formaldéhyde est égal

FIG. 37. — Nitrification de l'urée-formaldéhyde (UF) à 30 °C (YEE et LOVE, 1946).



à 2,01, la nitrification est identique à celle du sulfate d'ammoniaque ; mais dès que ce rapport tombe au-dessous de cette valeur, l'ammonification, et par suite la nitrification, sont ralenties. Il faut atteindre un rapport U/F de 1,03 pour que la minéralisation de l'urée-formaldéhyde soit pratiquement bloquée (fig. 37).

4° Ammonification biologique et non biologique

A côté de l'ammonification biologique, on a mis en évidence dans le sol un processus non biologique aboutissant à la libération d'azote ammoniacal sous l'influence d'une dessiccation poussée du sol résultant d'une exposition plus ou moins prolongée au rayonnement solaire ou à une irradiation infrarouge. Il est possible qu'il s'agisse alors d'une destruction des complexes formés par réversion entre la matière organique et l'ammonium (cf. *infra*). L'existence de ce processus, observé pour la première fois par DROUINEAU et ses collaborateurs (1953) en région méditerranéenne, a été confirmée ultérieurement (DOMMERGUES, 1960). Le tableau XXXIII montre que l'accroissement du taux d'azote ammoniacal échangeable dans le sol, sous l'effet du rayonnement infrarouge, peut atteindre, et même dépasser, deux fois le taux initial. Parallèlement à cet accroissement de la teneur du sol en azote ammoniacal échangeable, on observe assez souvent une augmentation de la teneur en nitrates, mais celle-ci est généralement faible ou très faible. Cette minéralisation non biologique doit être classée dans les effets primaires de la dessiccation au même titre que les autres effets primaires que nous examinerons à la page 415.

TABLEAU XXXIII. — ACCROISSEMENT DE LA TENEUR DU SOL
EN AZOTE AMMONIACAL ÉCHANGEABLE OBTENU PAR UNE EXPOSITION DE SEPT JOURS
AU RAYONNEMENT INFRAROUGE
(DOMMERGUES, 1960)

TYPE PÉDOLOGIQUE	TENEUR EN AZOTE AMMONIACAL ÉCHANGEABLE (NH ₃ -N EN PPM)	
	<i>Sol non exposé au rayonnement IR</i>	<i>Sol exposé au rayonnement IR</i>
Sol d'argile noire	3,3	8,0
Sol d'argile noire	4,3	11,3
Sol hydromorphe de bas-fond	7,7	19,7
Sol faiblement ferrallitique	9,3	11,0

L'importance de ce processus serait très mineure dans les sols non soumis à une phase de dessiccation prolongée. Mais il n'est pas possible de le négliger en région méditerranéenne ou en zone tropicale sèche, où il succède, en saison sèche, à l'ammonification biologique.

Des traitements autres que la dessiccation peuvent être à l'origine d'une ammonification non biologique : tel est le cas de la stérilisation par la vapeur.

Le devenir de l'azote ammoniacal dans le sol est multiple : 1° une fraction peut être transformée en nitrate par la microflore nitrifiante ; 2° une fraction peut être immobilisée par la microflore, qui, on le sait, préfère l'azote ammoniacal à l'azote nitrique ; 3° une fraction peut être réabsorbée par les plantes supérieures (notons à ce propos que, contrairement à ce qui a été admis pendant longtemps, l'azote ammoniacal peut être très bien utilisé par les plantes supérieures, en présence de quantités suffisantes d'azote nitrique) ; 4° une fraction peut être fixée sous une forme très stable sur la matière organique du sol (NOMMIK, 1965), ce processus étant désigné sous le terme de *réversion non biologique* par BROADBENT et NAKASHIMA (1967) ; 5° une fraction peut être fixée sur les minéraux argileux, ce processus étant connu sous le terme de *fixation de l'ammonium* ; 6° une fraction peut être perdue par volatilisation sous forme de gaz ammoniac. Les pertes par lessivage sont infimes (cf. p. 231).

II. — MICROFLORE RESPONSABLE DE L'AMMONIFICATION

L'ammonification est le fait d'un nombre considérable de micro-organismes qui interviennent à un point ou à un autre des chaînes de dégradation et dans des conditions écologiques extrêmement variables d'une espèce à l'autre.

Parmi les Bactéries ammonifiantes les plus connues, on citera les genres suivants : *Achromobacter*, *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Clostridium*, *Flavobacter*, *Micrococcus*, *Protaminobacter*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Serratia*.

L'aptitude à l'ammonification est, semble-t-il, aussi répandue chez les Champignons que chez les Bactéries. Les Actinomycètes possèdent très fréquemment l'équipement enzymatique nécessaire à la dégradation de l'azote organique ; mais il est possible que leur rôle dans le sol soit, en général, moins important que celui des Champignons en raison de leur croissance plus lente.

III. — FACTEURS ÉCOLOGIQUES RÉGISSANT LE PROCESSUS GLOBAL D'AMMONIFICATION DANS LE SOL

On vient de voir que l'aptitude à dégrader les substances protéiques jusqu'au stade azote ammoniacal est très répandue chez les micro-organismes. *On conçoit donc très bien alors que l'ammonification soit un processus peu spécifique.* En effet, quelles que soient les conditions écologiques où un sol se trouve placé et si, bien entendu, l'on reste dans les limites compatibles avec la vie, il renferme toujours un certain nombre d'espèces adaptées à ces conditions, qu'il s'agisse par exemple de températures basses

ou élevées, de pH de l'ordre de 4,0 ou au contraire de l'ordre de 9,0. L'ammonification apparaît donc dans tous les sols et dans des conditions écologiques très variables.

Il ne faut cependant pas en conclure que ce processus se développe toujours et partout avec la même intensité. En effet, certains facteurs peuvent le stimuler considérablement (par exemple, une élévation convenable de la température ou du pH) et d'autres le ralentir (par exemple, une très forte acidité).

Les facteurs régissant l'ammonification nette se confondent avec ceux régissant la minéralisation nette (cf. p. 215).

En ce qui concerne l'ammonification brute, on en connaît encore mal l'écologie car, jusqu'à présent, peu de chercheurs ont utilisé l'azote marqué (^{15}N) pour étudier ce problème. Cette méthode est cependant indispensable pour dissocier le processus d'ammonification brute des processus se développant simultanément dans le sol, en particulier de la nitrification, de la dénitrification et de l'immobilisation microbienne. Ainsi, il a fallu employer ^{15}N pour démontrer que l'ammonification brute est stimulée dans la rhizosphère, alors que l'ammonification nette est réduite (BARTHOLOMEW et CLARK, 1950) ; il convient de noter à ce propos que, dans la rhizosphère, le rapport R/S pour les micro-organismes ammonifiants est presque toujours très supérieur à 1 (cf. p. 572).

IV. — ORIGINE DE LA STABILITÉ DE L'AZOTE ORGANIQUE DANS LE SOL

L'azote organique du sol, qui, on l'a déjà indiqué, renferme une forte proportion de protéines, acides nucléiques et amino-sucres, présente une résistance remarquable à la biodégradation microbienne : le pourcentage d'azote organique du sol qui est minéralisé au cours d'une saison de végétation ne dépasse pas, en moyenne, 1 à 5 %. Cette stabilité de la matière organique azotée du sol est, en apparence, anormale puisque, lorsque l'on incorpore au sol des protéines, des acides nucléiques ou des amino-sucres, ces substances sont très rapidement biodégradées ; pour l'expliquer, on a émis différentes hypothèses que nous analyserons ci-dessous.

1° Complexation des protéines par certaines fractions organiques du sol

La stabilisation des composés azotés du sol est attribuée à la formation de complexes ⁽¹⁾ les liant à la lignine, à des substances phénoliques ou aux substances humiques elles-mêmes.

(1) Ce terme de *complexe* désigne des produits de réaction dont la composition exacte est loin d'être connue.

a) **Complexation des protéines par la lignine.** — L'hypothèse de la stabilisation par formation de complexes ligno-protéiques a été suggérée dès 1892, puis reprise et développée ultérieurement par divers auteurs, dont WAKSMAN et IYER (1932). On a pu reproduire expérimentalement des complexes ligno-protéiques très résistants à l'attaque microbienne (ESTERMANN et coll., 1959); mais on n'a pas encore élucidé la nature des forces liant les protéines à la lignine.

b) **Complexation des protéines par les composés phénoliques.** — En 1954, HANDLEY a émis l'hypothèse que les substances phénoliques hydrosolubles, c'est-à-dire provenant des litières par lessivage, pourraient tanner les protéines du sol et ainsi ralentir ou arrêter leur biodégradation. Ce chercheur a préparé des complexes polyphénols-protéines à partir de caséine et d'extraits à l'eau chloroformée de feuilles de plantes diverses; il a montré que la résistance à la minéralisation de ces complexes artificiels varie en fonction de la nature des extraits, les complexes obtenus avec *Calluna vulgaris* se minéralisant plus lentement que les complexes obtenus avec *Circaea lutetiana*. Ces résultats expliqueraient la lenteur de la minéralisation de l'azote et la formation d'humus brut (mor) sous végétation de *Calluna vulgaris*, alors que la minéralisation est nettement plus rapide sous *Circaea lutetiana* (HANDLEY, 1961). D'après COULSON et ses collaborateurs (COULSON et coll., 1960; DAVIES et coll., 1964), la stabilité des complexes entre les protéines d'une part, les tanins et les polyphénols apparentés d'autre part, dépendrait non seulement de la structure moléculaire des composés phénoliques, donc des plantes qui les produisent, mais aussi du pH du sol, les sols très acides favorisant l'apparition de complexes plus résistants à la biodégradation que les sols modérément acides ou neutres. De leur côté, BASARABA et STARKEY (1966) et BENOIT et ses collaborateurs (1968) ont démontré qu'en présence de tanins plus ou moins purifiés, on observe une inhibition importante de la biodégradation de la gélatine et de résidus végétaux divers, mais aucune modification de la biodégradation de composés à faible poids moléculaire tels que les acides aminés ou les sucres. Ces auteurs attribuent l'inhibition de la biodégradation par les tanins non seulement à la formation de ces complexes protéines-composés phénoliques, mais aussi à la dénaturation de certaines enzymes microbiennes.

BURGES (1965b) a mis en doute la validité de l'hypothèse de HANDLEY, car il estime que les litières sont la plupart du temps pauvres en phénols libres. On peut répondre à cette objection que cette faible teneur en phénols libres résulte du fait que ces composés réagissent, dès qu'ils sont libérés des litières, avec les protéines pour former des complexes. Cette réaction peut d'ailleurs se produire dans les feuilles elles-mêmes avant leur chute.

c) **Complexation des protéines avec les substances humiques.** — Les expériences de SIMONART et MAYAUDON (1961) indiquent que les substances humiques du sol, elles-mêmes, pourraient également intervenir comme agents complexants protecteurs. En effet, en complexant une albumine végétale (albumine foliaire de *Tetragonia expansa*) par un acide humique appauvri en azote par hydrolyse acide, ces auteurs ont fait tomber le taux de biodégradation de 60-65 % à 10-15 % seulement.

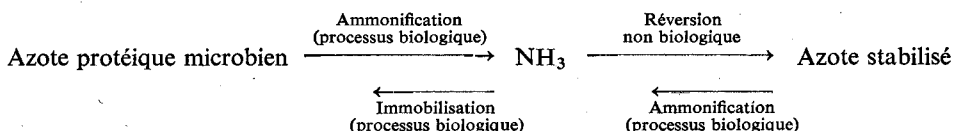
Des expériences plus récentes confirment que les protéines microbiennes, comme les protéines végétales, peuvent se condenser avec des produits de métabolisme, des hydrates de carbone, pour donner naissance aux composés quaternaires de l'humus (SIMONART et MAYAUDON, 1963). L'azote humique qui se forme ainsi est biologiquement très stable et il constitue un vaste *pool inerte* en marge du cycle de l'azote (JANSSON, 1963).

2° Complexation des protéines par les minéraux argileux

Il est admis que les protéines peuvent être protégées contre la biodégradation par adsorption sur les surfaces externes des minéraux argileux ou par inclusion à l'intérieur de leurs feuillets. On reviendra sur cet effet protecteur des argiles à l'occasion de l'étude des argiles (cf. p. 459).

3° Réversion non biologique de l'azote minéral provenant de l'ammonification de l'azote protéique microbien

Sous l'effet de la microflore ammonifiante, les protéines microbiennes sont minéralisées sous forme ammoniacale ; puis l'ammoniac ainsi formé donnerait par réaction chimique sur la matière organique du sol des composés plus stables que l'azote protéique microbien. BROADBENT et NAKASHIMA (1967) schématisent comme suit la succession de ces processus, la longueur des flèches étant proportionnelle aux vitesses de réaction :



4° Inhibition partielle des enzymes ou des micro-organismes par adsorption sur les argiles

On verra ultérieurement (p. 463) que micro-organismes et enzymes peuvent, dans certaines conditions, être adsorbés par les argiles, cette adsorption entraînant une inhibition plus ou moins marquée des processus de dégradation des substrats considérés, et en particulier des processus d'ammonification.

5° Toxicité de l'environnement vis-à-vis de la microflore

Le ralentissement de la biodégradation de la matière organique dans un sol peut résulter de l'intervention de substances inhibitrices de l'activité microbienne provenant soit de la végétation, soit du métabolisme microbien, l'action de ces substances étant

considérablement renforcée par l'acidité du milieu ou l'anaérobiose. Ce mécanisme interviendrait concurremment avec la complexation des protéines par les tanins (thèse de HANDLEY), pour stabiliser la matière organique et provoquer son accumulation dans certaines conditions sous différentes formations forestières (BAUZON et coll., 1969).

6° Résistance structurale à la biodégradation

Même lorsqu'ils se trouvent placés dans des conditions écologiques identiques, les différents composés azotés qui s'incorporent au sol ne sont pas biodégradés à la même vitesse. Ces différences dans la résistance à la biodégradation peuvent être attribuées à des particularités de la structure moléculaire de ces substances (ALEXANDER, 1965a).

7° Inaccessibilité des composés azotés

Les composés azotés peuvent être soustraits à la biodégradation par la protection d'une barrière physique : tel est le cas déjà évoqué des composés azotés inclus entre les feuillets d'argiles gonflantes ; tel est aussi le cas de la matière organique enrobée ou incluse à l'intérieur d'agrégats (cf. p. 482).

8° Conséquences

Quel que soit le ou les mécanismes impliqués, la résistance à la biodégradation de l'azote organique du sol est un fait capital sur le plan agronomique. En effet, la stabilisation de l'azote organique permet le stockage de cet élément qui est ensuite mis progressivement à la disposition des plantes, dans des conditions mal élucidées d'ailleurs. Cette fourniture échelonnée d'azote contribue de façon efficace et substantielle à la nutrition des plantes. Même dans le cas d'applications d'engrais, l'azote provenant de la minéralisation du stock d'azote organique du sol peut représenter 70 à 90 % de l'azote absorbé par les plantes (BARTHOLOMEW et coll., 1950). En outre, on notera que la stabilisation de l'azote organique dans le sol évite des pertes par lessivage ou dénitrification, qui pourraient être considérables. Mais la stabilisation ne présente pas que des avantages ; elle aboutit parfois à un blocage de l'azote dont les conséquences sont particulièrement néfastes. Ce blocage, qui s'observe avec netteté dans l'horizon Ao sous certaines formations forestières (mor et moder des sols podzoliques et des podzols), nuit considérablement à la nutrition azotée des arbres. C'est aussi un processus de stabilisation de la matière organique (dont l'origine est d'ailleurs différente) qui constitue un obstacle à la mise en valeur de certaines rendzines (STUDER et BLANCHET, 1964).

C. — LA NITRIFICATION

I. — GÉNÉRALITÉS

L'azote ammoniacal du sol qui se forme sur place a une origine biologique (terme ultime de l'ammonification) et non biologique (notamment libération de l'ammonium fixé sur les argiles) ; il peut aussi être apporté sous forme d'engrais ammoniacaux. Il est oxydé sous la forme nitrique lorsque les conditions écologiques sont favorables. On sait, depuis les travaux de SCHLOESING et MUNTZ (1877) et WARINGTON (1891), qu'il s'agit d'un processus biologique que l'on désigne sous le nom de *nitrification*. Les micro-organismes autotrophes responsables de la nitrification ont été isolés par WINOGRADSKY (1890, 1891). Parallèlement à la nitrification autotrophe, on a démontré l'existence d'une nitrification hétérotrophe, qui est le fait d'une microflore hétérotrophe, capable de produire de l'azote nitrique à partir d'azote ammoniacal ou d'azote organique.

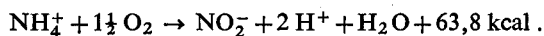
Le devenir de l'azote nitrique dans le sol est multiple :

- 1° une fraction peut être absorbée par les plantes supérieures ;
- 2° une fraction peut être immobilisée par la microflore, cette consommation étant d'autant plus importante que le rapport C/N du sol est élevé, c'est-à-dire que les micro-organismes disposent d'une plus grande quantité de substances énergétiques ;
- 3° une fraction peut être perdue par lessivage, car l'azote nitrique est très soluble et n'est pas retenu dans le sol par adsorption sous forme échangeable comme l'est l'azote ammoniacal ;
- 4° une fraction peut être perdue par dénitrification par voie biologique jusqu'au stade azote gazeux.

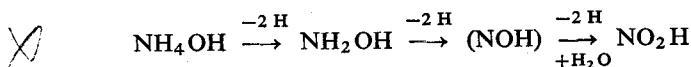
1° Nitrification autotrophe

La nitrification autotrophe est le fait de deux groupes de micro-organismes hautement spécialisés qui tirent toute l'énergie qui leur est nécessaire de l'oxydation de l'azote minéral ammoniacal ou nitreux. Le premier groupe, celui du *Nitrosomonas*, oxyde l'azote ammoniacal en azote nitreux (*nitrosation* ou *nitritation*). Le deuxième groupe, celui du *Nitrobacter*, oxyde l'azote nitreux en azote nitrique (*nitratisation*).

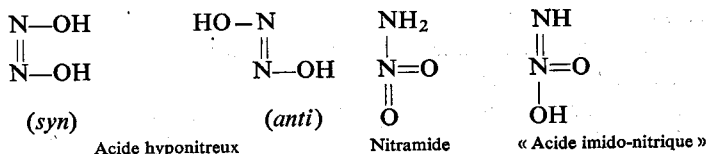
a) *Nitritation (ou nitrosation)*. — La réaction globale d'oxydation est la suivante :



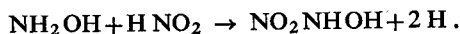
Cette oxydation se fait en trois étapes, à chacune desquelles il y a perte de deux électrons et de deux protons :



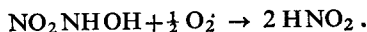
L'azote passe de l'état d'oxydation -3 à l'état d'oxydation $+3$. L'intermédiaire entre l'hydroxylamine et l'acide nitreux n'est pas encore identifié : ce serait un polymère du radical nitroxy (NOH) pour lequel on a proposé trois formes (SENEZ, 1967), dont aucune n'a encore été identifiée avec certitude :



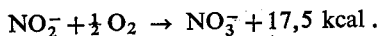
On a imaginé (ALEEM et coll., 1962) d'autres intermédiaires possibles tels que la nitrohydroxylamine, qui se formerait par réaction de l'hydroxylamine sur l'oxyde nitreux :



Dans ce cas, l'acide nitrique résulterait directement d'une oxydation suivant la réaction :



b) **Nitratation.** — La réaction globale d'oxydation est la suivante :



On ne connaît pas de produits intermédiaires ; le mécanisme consisterait en une déshydrogénation de l'ion NO_2^- qui se trouve sous forme hydratée :



2° Nitrification hétérotrophe

L'existence de la nitrification hétérotrophe est bien établie, tout au moins *in vitro*. On a, en effet, mis en évidence de nombreuses espèces de micro-organismes — qui ne semblent d'ailleurs présenter aucune affinité taxonomique — capables de produire des nitrites ou des nitrates ou les deux à partir de composés azotés plus réduits, tels que composés ammoniacaux, oximes d'acides organiques. Contrairement aux micro-organismes nitrificateurs autotrophes, qui sont indépendants de tout approvisionnement en carbone organique, les micro-organismes nitrificateurs hétérotrophes sont incapables d'utiliser la réaction d'oxydation de l'azote comme seule source d'énergie pour leurs synthèses cellulaires. En fait, rien ne prouve jusqu'à présent que, chez les nitrificateurs hétérotrophes, l'énergie libérée par l'oxydation des formes réduites de l'azote soit couplée avec des processus de biosynthèse. Bien plus, certains hétérotrophes,

et vraisemblablement la plupart d'entre eux, se développent bien dans des conditions qui interdisent la nitrification. Ces faits suggèrent que les mécanismes biochimiques qui caractérisent la nitrification autotrophe et la nitrification hétérotrophe diffèrent considérablement. On connaît d'ailleurs encore mal la biochimie de la nitrification hétérotrophe. Ce processus pourrait, pense-t-on, faire intervenir une catalase et une peroxydase ; mais le rôle précis de ces deux enzymes dans la chaîne des réactions est encore obscur (ALEXANDER, 1965b).

Les exigences nutritionnelles des micro-organismes impliqués dans la dénitrification hétérotrophe sont à l'origine de difficultés d'isolement. En effet, les milieux d'enrichissement nécessaires à leur croissance, doivent renfermer du carbone organique en plus du substrat azoté ; or, de tels milieux ne sont nullement électifs : ils permettent le développement d'un nombre considérable de micro-organismes hétérotrophes dont certains seulement sont doués d'une activité nitrifiante. Il est, dans ces conditions, nécessaire de tester l'aptitude à la nitrification de chacune des souches que l'on peut isoler sur de tels milieux.

a) Oxydation du substrat azoté jusqu'au stade nitreux. — La faculté de convertir l'azote ammoniacal en azote nitreux est assez répandue chez les Bactéries et Actinomycètes ; CUTLER et CRUMP (1933) ont déterminé plus de 100 espèces capables d'oxyder l'ammonium en nitrite. La production de nitrite est faible pour de nombreuses espèces : elle atteint au maximum 5 ppm N nitreux.

Les oximes de divers acides organiques, dont l'acide pyruvique, donnent facilement naissance à des nitrites sous l'action de cultures pures ou mixtes d'*Achromobacter*, *Corynebacterium*, *Nocardia*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes* (QUASTEL et coll., 1950 ; JENSEN, 1951). Avec les oximes, la production de nitrite est plus importante qu'avec l'azote ammoniacal : 40 à 70 ppm N nitreux. Mais ces résultats sont encore très faibles à côté du *Nitrosomonas*, qui peut produire 1 000 à 2 000 ppm N nitreux. On a mis en évidence la production de nitrites à partir d'autres formes d'azote organique, mais il s'agit encore d'une production souvent très faible : moins de 1 ppm (EYLAR et SCHMIDT, 1959).

Certains micro-organismes qui oxydent l'azote organique jusqu'au stade nitrite, donnent en outre des nitrates à partir du même substrat ; on les étudiera au paragraphe suivant.

b) Oxydation du substrat azoté jusqu'au stade nitrique. — Les espèces microbiennes capables d'oxyder l'azote jusqu'au stade nitrate sont peu nombreuses.

La plus anciennement connue est *Aspergillus flavus*, qui produit de l'hydroxylamine, des nitrites et des nitrates à partir d'azote ammoniacal ou de composés aminés (SCHMIDT, 1960 ; MARSHALL et ALEXANDER, 1962). Citons également un *Arthrobacter* : *A. globiformis*, dont l'activité nitrifiante a été mise en évidence récemment par GUNNER (1963). La production de nitrate par *Aspergillus flavus* peut atteindre 100 ppm (HIRSCH et coll., 1961) ; mais elle est seulement de 5 ppm dans le cas de l'*Arthrobacter* (GUNNER, 1963). Bien entendu, ces chiffres n'ont qu'une valeur très relative, les conditions expérimentales variant considérablement suivant les auteurs.

3° Nitrification non biologique (photonitrification)

Ce processus est fort controversé. Il est admis par certains chercheurs (DHAR et coll., 1933), mais n'a pas été confirmé par la suite (voir par exemple SIMPSON, 1960).

Comme nous l'avons déjà fait lors de l'étude de la fixation de l'azote, nous présenterons successivement : 1° les problèmes écologiques posés par les micro-organismes responsables de la nitrification considérés séparément (autécologie) ; 2° les problèmes écologiques posés par le processus global de nitrification dans le sol.

II. — AUTÉCOLOGIE DES MICRO-ORGANISMES NITRIFICATEURS

1° Nitrification autotrophe

a) MICRO-ORGANISMES RESPONSABLES

Ils appartiennent aux deux groupes bactériens suivants :

a) **Les Bactéries nitreuses.** — Le genre incontestablement le plus répandu est le genre *Nitrosomonas*, dont l'espèce la plus commune est *N. europaea*, Bactérie de forme oblongue de petite dimension ($0,9-1,0 \times 1,1-1,8 \mu$) formant souvent des zooglées d'un diamètre allant jusqu'à 50μ .

A côté de ce genre, on en a décrit quatre autres : *Nitrosococcus*, *Nitrospira*, *Nitrosogloea*, *Nitrosocystis*, que l'on rencontre beaucoup plus rarement et dont la systématique devrait être révisée.

b) **Les Bactéries nitriques.** — Le genre principal est le genre *Nitrobacter* représenté essentiellement par l'espèce : *N. winogradskyi*, bâtonnet ovale de petite dimension ($0,6-0,8 \times 1,0-1,2 \mu$) non mobile. *N. agilis* ne semble pas présenter des caractères très différents de *N. winogradskyi*, auquel on peut le rattacher. Le genre *Nitrocystis* jouerait un rôle secondaire.

b) FACTEURS ÉCOLOGIQUES DE NATURE CHIMIQUE ET PHYSIQUE

a) **Substrat carboné.** — Les Bactéries nitrifiantes autotrophes utilisent seulement le carbone du gaz carbonique et des carbonates, qui ne constitue jamais dans le sol un facteur limitant pour le développement de ces micro-organismes.

b) **Substrat azoté.** — Elles utilisent l'azote sous forme ammoniacale (Bactéries nitreuses) ou nitreuse (Bactéries nitriques). On verra, à propos de l'étude de la nitrification,

fication de l'azote dans le sol, l'influence du support de l'ammonium sur le processus. Le *Nitrobacter* est gêné par un excès d'azote ammoniacal.

c) **Eléments minéraux divers.** — On incorpore souvent aux milieux de culture du carbonate de calcium. L'intérêt de cette adjonction ne réside pas dans le fait qu'elle apporte du calcium, puisque cet élément ne semble pas indispensable à la croissance des Bactéries nitrifiantes : l'utilité du carbonate de calcium provient simplement de ce qu'il constitue une source de carbone (en même temps que CO_2) et qu'il tamponne le milieu. D'après ALEEM et ALEXANDER (1960), l'adsorption des Bactéries nitrifiantes sur les particules de carbonate de calcium ne modifie pas leur activité.

Le magnésium et le phosphore sont indispensables à faible dose ; le potassium est également nécessaire ainsi que le soufre, car on a trouvé de la méthionine dans les hydrolysats de protéines de *Nitrosomonas*. Les besoins en fer sont faibles : 0,1 ppm ; mais cet élément est indispensable : il entrerait dans la constitution des enzymes du *Nitrobacter*. Le cuivre et le molybdène stimuleraient les *Nitrobacter* (ALEXANDER, 1965b).

d) **pH.** — Les Bactéries nitrifiantes sont des neutrophiles ou des basiphiles. Leur activité optimale se situe en effet entre les pH 6,8 et 9,0. Au-dessus du pH 9,0, la nitrification diminue rapidement. Le pH minimal est très variable ; il oscille en effet entre 7,0 et 5,0 suivant les conditions expérimentales : souches, teneur et nature des colloïdes argileux (cf. p. 471). Le *Nitrosomonas* semble, en général, plus tolérant vis-à-vis du pH que le *Nitrobacter*.

e) **Aération.** — Les Bactéries autotrophes nitrifiantes sont des micro-organismes aérobies stricts. La production de nitrate est donc ralentie par de faibles tensions d'oxygène ; mais elle l'est également par des tensions anormalement élevées : pour la culture des Bactéries nitrifiantes, l'aération ne doit pas être exagérée : les *Nitrosomonas* et *Nitrobacter* consomment seulement 1,5 et 0,5 moles d'oxygène par molécule de substrat énergétique oxydée.

f) **Température.** — Nous verrons plus bas que les exigences thermiques minimales et maximales des *Nitrosomonas* diffèrent sensiblement de celles des *Nitrobacter*. En ce qui concerne les températures optimales, elles sont en général comprises entre 28 °C et 36 °C et peut-être même parfois 40 °C chez certaines souches de zone tropicale sèche. Mais il n'existe pas de souches thermophiles. D'après GIBBS (1919), *Nitrosomonas* est tué par une exposition de 10 minutes à 53-55 °C ; pour *Nitrobacter*, la température létale est de 56-58 °C. La température d'activité minimale est plus faible pour *Nitrosomonas* que pour *Nitrobacter*.

g) **Substances inhibitrices de la nitrification.** — Les Bactéries nitrifiantes autotrophes sont très sensibles à l'action des composés toxiques. On connaît de très nombreuses substances inhibitrices de la nitrification en culture pure. Il s'agit

de composés minéraux, tels que chlorates ou chlorures, ou organiques, tels qu'acides aminés, substances chélatantes, antibiotiques (streptomycine, terramycine), composés phénoliques, dérivés de l'aniline, etc. Certains composés ont une action inhibitrice différente sur chacune des deux étapes de la nitrification ; c'est ainsi que les chlorures inhibent préférentiellement la nitrosation, alors que les chlorates ou thiocyanates inhibent la nitratisation. Le rôle effectif dans le sol et l'intérêt pratique de quelques inhibiteurs sera évoqué à la page 209.

c) FACTEURS ÉCOLOGIQUES DE NATURE MICROBIENNE

Un certain nombre de faits militent en faveur de l'existence d'associations synergiques nitrifiantes. Mais l'étude de ces associations est encore peu avancée (cf. p. 686).

d) DENSITÉ

Dans la plupart des sols cultivés en régions tempérées ou tropicales, les densités des nitrificateurs autotrophes sont de l'ordre de 10^2 , 10^3 unités par g de sol. Mais on a observé des densités bien supérieures dans des conditions très favorables : 10^4 à 10^6 . Dans les sols forestiers, les densités de Bactéries nitrifiantes autotrophes sont souvent très faibles, 10 ou même moins de 10 unités par g de sol.

Il faut se montrer très prudent dans l'interprétation des numérations de Bactéries nitrifiantes dans les sols ; en effet il semble que, bien souvent, les densités ont été fortement sous-estimées car les auteurs ont utilisé des milieux défectueux. L'emploi de méthodes de numération plus élaborées — telles que celle proposée récemment par VAN SCHREVEN et HARMSSEN (1968) — permettra peut-être de s'en faire une idée plus exacte.

REMARQUE IMPORTANTE. — Pour terminer cet examen rapide des caractéristiques écologiques des Bactéries nitrifiantes autotrophes, nous attirerons l'attention sur les deux points suivants : 1° les exigences écologiques des *Nitrosomonas* et *Nitrobacter*

TABLEAU XXXIV. — EXIGENCES ÉCOLOGIQUES COMPARÉES
DE « NITROSOMONAS » ET « NITROBACTER »

	pH	TEMPÉRATURE	AZOTE AMMONIACAL
<i>Nitrosomonas</i>	Tolère les pH élevés	Encore actif aux faibles températures	Tolère de fortes concentrations
<i>Nitrobacter</i>	Inhibé par pH supérieurs à 9,0 et inférieurs à 5,0	Inactif aux températures supérieures à 40 °C et inférieures à 5 °C	Inhibé par de fortes concentrations

diffèrent suffisamment (tableau XXXIV) pour que, dans des conditions écologiques extrêmes, l'un d'eux puisse encore être actif alors que l'autre est déjà inhibé. Ainsi, aux pH très élevés, *Nitrosomonas* oxyde encore l'azote ammoniacal en azote nitrique, mais *Nitrobacter* se trouve placé à un pH trop élevé pour qu'il puisse transformer les nitrites formés en nitrates : d'où accumulation de nitrites dans le sol. Il en est de même pour les températures extrêmes (JUSTICE et SMITH, 1962) ; 2° les Bactéries nitrifiantes se classent parmi les micro-organismes les plus sensibles à l'action létale de facteurs défavorables : températures élevées, substances toxiques, irradiations diverses. Toutefois, en ce qui concerne leur résistance à la dessiccation, les avis sont très partagés.

2° Nitrification hétérotrophe

On a déjà indiqué plus haut le nom d'un certain nombre de genres ou d'espèces microbiennes impliquées dans ce processus. Rappelons qu'il peut s'agir de Bactéries (*Achromobacter*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Pseudomonas*, *Vibrio*), d'Actinomycètes (*Nocardia*, *Streptomyces*) ou de Champignons, ceux-ci appartenant essentiellement aux genres *Penicillium* et *Aspergillus*. En ce qui concerne leur écologie, elle est très mal connue, à l'exception de quelques cas particuliers (HIRSCH et coll., 1961).

Il est encore très difficile de se faire une idée, même approximative, de l'importance effective de la nitrification hétérotrophe dans le sol. On peut toutefois penser qu'en dépit de leur densité relativement élevée, les micro-organismes nitrificateurs hétérotrophes jouent un rôle de second plan, car leur rendement est beaucoup plus faible que celui des Bactéries nitrifiantes autotrophes.

III. — FACTEURS ÉCOLOGIQUES RÉGISSANT LE PROCESSUS GLOBAL DE NITRIFICATION NETTE DANS LE SOL

Les principaux facteurs écologiques qui règlent le processus de nitrification sont la présence, la forme et l'accessibilité du substrat ammoniacal, le pH, l'aération, l'humidité, la présence d'inhibiteurs et la végétation.

1° Substrat ammoniacal

a) TENEUR DU SOL EN AZOTE AMMONIACAL

Dans les sols où les micro-organismes nitrificateurs sont normalement actifs, la teneur en azote ammoniacal est relativement faible et la teneur en azote nitreux est

nulle. En effet, au fur et à mesure de sa production, l'azote ammoniacal est transformé en nitrite, qui est immédiatement oxydé en nitrate. Ce fait suggère d'ailleurs que, dans ces sols, l'azote ammoniacal ou l'azote nitreux se comportent en facteurs limitants.

Il n'en est plus de même lorsque la teneur en azote ammoniacal s'élève anormalement à la suite de l'application massive, dans toute la masse du sol ou en des points localisés, d'engrais ammoniacaux ou d'engrais organiques donnant rapidement naissance à de l'azote ammoniacal (urée, sang, par exemple). Dans ces conditions, l'excès d'azote ammoniacal (notamment sous sa forme non ionisée : NH_3) inhibe soit les deux chaînons de la nitrification, soit seulement la nitratisation sans gêner pour autant la nitrosation ; si l'inhibition porte seulement sur le premier chaînon de la nitrification, *les nitrites s'accumulent dans le sol* (voir par exemple : ISHIZAWA et MATSUGUCHI, 1962 ; SMITH et BURNS, 1965). L'accumulation de nitrites est favorisée en particulier :

1° par la forme non ionisée de l'azote ammoniacal (NH_3), cette forme étant mieux représentée que la forme ionisée (NH_4^+) en milieu basique ;

2° par une faible capacité d'échange du sol ;

3° par le pH élevé, résultant de l'abondance d'azote ammoniacal ou de la présence de calcaire actif.

Les inconvénients de l'accumulation de l'azote nitreux résident dans :

- sa toxicité vis-à-vis des plantes ;
- sa toxicité vis-à-vis des animaux ;
- l'apparition de pertes d'azote sous forme gazeuse résultant de réactions chimiques (dénitrification chimique) (cf. p. 230).

b) FORME DE L'ENGRAIS AZOTÉ APPORTÉ AU SOL

Lorsque l'engrais azoté est apporté au sol sous forme d'ammoniac anhydre, on observe immédiatement une élévation du pH qui tend à persister assez longtemps, car l'acidification due à la nitrification de cette forme d'engrais azoté est modérée. Le maintien du pH à un niveau assez élevé est favorable à la nitrification dans les sols acides. Il en est de même lorsque l'engrais azoté est apporté au sol sous forme organique (urée, résidus végétaux à faible C/N).

Lorsque l'engrais azoté est apporté au sol sous forme de sels ammoniacaux, l'acidification induite par la nitrification est plus élevée que dans les cas précédents pour les raisons exposées à la page 350. Il en résulte que, dans les sols neutres ou basiques, ce sont les sels ammoniacaux qui sont nitrifiés dans les meilleures conditions.

On ajoutera enfin que la nature de l'anion combiné à NH_4^+ dans les sels ammoniacaux influe lui-même sur l'intensité de la nitrification (ISHIZAWA et MATSUGUCHI, 1962).

c) ACCESSIBILITÉ DE L'ION AMMONIUM DANS LE SOL

Dans le sol, l'ion ammonium peut être en solution dans l'eau, sous forme échangeable ou fixé (fig. 38). Il peut en outre être complexé par certaines fractions de la matière organique. Son aptitude à être nitrifié varie considérablement suivant les cas.

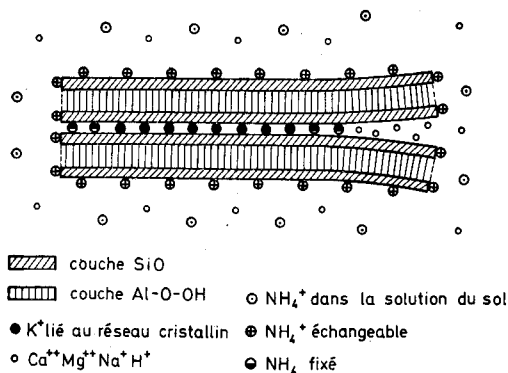


FIG. 38. — Schéma faisant ressortir les trois formes de NH_4^+ en présence d'une argile (illite) : soluble, échangeable, fixé (NOMMIK, 1965).

a) NH_4^+ en solution et NH_4^+ échangeable. — La question de savoir si l'ammonium échangeable, c'est-à-dire adsorbé sur les minéraux du sol, est nitrifié plus facilement que l'ammonium en solution, est loin d'être résolue. Il résulte en effet de certains travaux que la nitrification porterait non pas sur les ions ammonium en solution, mais sur les ions adsorbés (LEES et QUASTEL, 1946 ; MACURA et KUNC, 1965). Mais d'autres expériences mettent en évidence une diminution de la nitrification lorsque l'ammonium est adsorbé sous forme échangeable (GOLDBERG et GAINEY, 1955).

Ces résultats contradictoires pourraient s'expliquer, en partie tout au moins, par le fait que les expérimentateurs : 1° n'ont pas tenu compte de l'interférence de certains facteurs (phénomène d'adsorption des micro-organismes, présence de facteurs de croissance, par exemple) ; 2° n'ont pu séparer l'effet de l'adsorption des ions NH_4^+ à l'état échangeable et l'effet de la fixation.

b) Ammonium fixé. — Si le mécanisme exact de la fixation des ions NH_4^+ comme celui des ions K^+ , n'est pas encore parfaitement élucidé, il est bien établi par contre que l'ammonium fixé est beaucoup plus difficilement nitrifiable que l'ammonium échangeable. D'après ALLISON et ses collaborateurs (1953) et NOMMIK (1957), le pourcentage d'ammonium fixé nitrifiable est en général inférieur à 15 % ; il atteint très rarement 30 % (tableau XXXV).

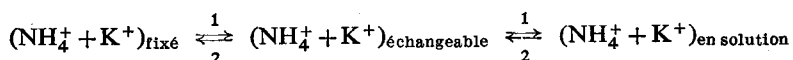
La défixation (ou libération) de l'ion NH_4^+ , qui est la condition préalable de la nitrification, dépend non seulement de la nature des colloïdes argileux impliqués, mais aussi de la teneur du sol en ions K^+ . Quand celle-ci est faible, c'est-à-dire qu'elle satisfait, mais sans les dépasser, les besoins des Bactéries nitrifiantes, une partie des ions NH_4^+ peut être libérée et donc nitrifiée. Mais lorsque la teneur en ions K^+ augmente, la nitrification décroît. Il ne s'agit pas d'un effet toxique des ions K^+ puisque des

TABLEAU XXXV. — NITRIFICATION DE L'AMMONIUM FIXÉ
DANS QUELQUES SOLS NORD-AMÉRICAINS
(ALLISON et coll., 1953)

SOL	ARGILE DOMINANTE	CAPACITÉ D'ÉCHANGE (meq/100 g)	pH	NH ₄ ⁺ FIXÉ (meq/100 g)	NITRIFI- CATION %
Limon fin de Miami (23-33 cm)	Illite	17,1	5,7	3,3	4,7
Limon sableux fin de Traver (61-153 cm)	Vermiculite	7,6	9,9	3,4	2,1
Limon fin de Yolo (25-53 cm)	Montmorillonite	22,4	7,1	1,6	14,0

N. B. — 99 % des nitrates se forment au cours des sept premières semaines d'incubation ; la production de nitrates est ensuite très faible.

apports, même élevés, de cet élément en milieu liquide n'inhibent nullement la nitrification, mais du blocage dans les argiles des ions NH₄⁺ par les ions K⁺ (VAN SCHREVEN, 1965) ou d'un déplacement de l'équilibre :



dans le sens 2, ce qui est d'autant plus facilement concevable que l'on sait que, les rayons ioniques de K⁺ et NH₄⁺ étant très voisins, les processus de fixation de ces deux éléments sont soumis aux mêmes lois.

c) *Ammonium complexé par certaines fractions de la matière organique du sol.*

— On a vu page 196 que l'ammonium peut être bloqué par réaction avec certaines fractions de la matière organique du sol. Bien qu'aucune preuve expérimentale n'ait encore été avancée, on peut penser que cette séquestration de l'ammonium s'oppose à sa nitrification (SWABY, 1962).

2° pH

Dans le sol, la nitrification optimale se situe en général au niveau ou un peu au-dessus de la neutralité. C'est ce qui explique l'effet souvent spectaculaire du chaulage (DOMMERGUES, 1956a). Mais ce caractère neutrophile de la nitrification est loin d'être absolu : la preuve en est que, dans des sols à pH 5,0, le chaulage n'accroît pas nécessairement l'activité nitrifiante (RUSSEL, 1961, p. 301). Le pH minimal admissible varie beaucoup suivant les cas : il peut descendre au-dessous de 4,0. LOSSAINT (1961) et

LOSSAINT et ROUBERT (1964) signalent une excellente nitrification dans les sols bruns forestiers à mull de pH 4,9 ; elle est encore importante au voisinage de 4,0. Cette tolérance, *parfois remarquable dans certains sols*, pourrait s'expliquer :

- 1° par l'intervention de souches de Bactéries autotrophes adaptées à l'acidité ;
- 2° par l'intervention des micro-organismes hétérotrophes adaptés aux pH acides ;
- 3° par l'existence de microhabitats à pH plus élevé que le pH apparent du sol.

3° Composition de l'atmosphère du sol

La nitrification est un processus aérobie ; mais son exigence en O_2 semble moins élevée qu'on ne le croyait jusqu'à présent. Elle se maintiendrait même à un niveau sensiblement constant tant que la teneur en O_2 reste supérieure à un seuil assez bas au-dessous duquel elle cesserait brusquement. La variation de l'intensité de la nitrification suivant la teneur du milieu en oxygène ne serait pas progressive mais discontinue : elle aurait plutôt l'allure d'une fonction en escalier (fig. 103).

Pour CLARK (1962), le CO_2 serait un facteur limitant important pour la nitrification : en effet, d'après cet auteur, la nitrification ne peut se développer tant que la teneur en CO_2 du milieu ne dépasse pas celle de l'atmosphère ; elle est accélérée lorsque cette teneur s'élève à 1-5 % (en volume). Ces résultats expliqueraient l'effet dépressif sur la nitrification d'une aération trop vigoureuse du sol (HARMSSEN et VAN SCHREVEN, 1955).

4° Humidité

La tolérance de la nitrification vis-à-vis du facteur humidité est beaucoup moins large que celle de l'ammonification. En raison de son caractère aérobie, la nitrification souffre de très fortes humidités, qui, on le sait, réduisent les échanges gazeux.

On a parfois signalé des exceptions à cette règle : c'est ainsi que CHEN et CHOU (1964) considèrent que des sols submergés (rizières) peuvent être le siège d'une nitrification relativement intense ; bien entendu, de telles observations doivent être accueillies avec réserve tant qu'elles n'ont pas été confirmées par des études plus approfondies.

Le pF optimal de nitrification semble se situer entre 1,0 et 2,0. En ce qui concerne les faibles humidités, la nitrification présente un seuil qui se situe au niveau du pF 4,5-4,2, alors qu'il est de l'ordre de 5,4 à 5,6 pour la microflore ammonifiante ; les exigences hydriques minimales des micro-organismes nitrificateurs, qui sont donc plus élevées que celles des micro-organismes ammonifiants, sont sensiblement les mêmes que celles des plantes supérieures (DOMMERGUES, 1962), dont on sait que le point de

flétrissement oscille, pour la plupart, autour du pF 4,2. La dessiccation exerce, sur la nitrification, un *effet secondaire* stimulant aussi net que celui qui porte sur l'ammonification (cf. p. 420).

5° Substances inhibitrices de la nitrification

Dans le sol, la nitrification est souvent ralentie ou même inhibée par des substances toxiques qui sont apportées spontanément par la végétation ; nous ne traiterons pas ici de ce problème qui sera évoqué au paragraphe suivant. Nous examinerons par contre le cas des substances synthétiques incorporées au sol pour contrôler la nitrification ou pour lutter contre les ennemis des cultures (pesticides).

a) INHIBITEURS EXPÉRIMENTAUX PRÉCONISÉS POUR LE CONTRÔLE DE LA NITRIFICATION DANS LES SOLS

Dans les sols agricoles neutres ou basiques, la nitrification, qui est particulièrement active, présente deux inconvénients majeurs : 1° elle favorise les pertes d'azote par lessivage : l'azote nitrique est très soluble alors que l'ion NH_4^+ est adsorbé sur le sol et, sauf exception (cf. *infra*), n'est pas entraîné ; 2° elle favorise les pertes d'azote par dénitrification biologique et aussi par réaction chimique. A ces deux inconvénients, s'en ajoutent deux autres qui se manifestent lors de fortes applications d'engrais ammoniacaux : 1° accumulation excessive de nitrates dans les tissus végétaux, d'où danger de toxicité pour les animaux ; 2° apparition d'une toxicité pour la plante elle-même, l'azote nitrique étant, à concentration égale, plus toxique que l'azote ammoniacal (NOWAKOWSKI, 1968).

Pour éviter les conséquences nuisibles de la nitrification, on peut chercher à en réduire l'intensité par l'application d'inhibiteurs appropriés. Parmi les produits dont l'emploi a été envisagé (ALEXANDER, 1965b), nous en citerons deux : la dicyanodiamide et la 2-chloro-6-(trichlorométhyl) pyridine.

a) *Dicyanodiamide ou cyanoguanidine*. — Ce produit de polymérisation de la cyanamide, appliqué à des doses représentant environ 5 à 10 % de l'engrais azoté, retarde d'autant plus la nitrification que le pH du sol est plus élevé et que la température est basse. Il réduit effectivement les pertes d'azote et améliore l'efficacité des engrais. Les avantages de son emploi sont d'autant plus marqués que le sol est plus calcaire et plus exposé à un lessivage intense : irrigation, précipitations brutales (SOUBIES et coll., 1962). Il n'existe pas de danger d'accumulation de la dicyanodiamide dans le sol puisque ce corps est à son tour minéralisé jusqu'au stade nitrate, mais très progressivement (NOMMIK, 1958 ; REDDY, 1964). On a déjà signalé que la dicyanodiamide peut apparaître spontanément dans le sol par dimérisation de la cyanamide, notamment en cas d'application massive de cet engrais.

b) 2-Chloro-6-(trichlorométhyl) pyridine. — Appliqué à des doses représentant 0,5 à 2 % de l'azote ammoniacal apporté avec l'engrais, le 2-chloro-6-(trichlorométhyl) pyridine présente également la propriété de limiter la nitrification (GORING, 1962 ; TURNER et coll., 1962). Son effet toxique s'exercerait vis-à-vis des micro-organismes nitrificateurs autotrophes, mais pas vis-à-vis des hétérotrophes (SHATTUCK et ALEXANDER, 1963). Comme l'inhibiteur précédent, ce produit disparaît progressivement dans le sol à la fois par volatilisation et par biodégradation (REDEMANN et coll., 1964).

Si des inhibiteurs de ce type sont appelés à rendre des services dans les régions tempérées, ils s'avèrent en général inefficaces en milieu tropical, où leur biodégradation est trop rapide pour que leur effet ait le temps de se manifester. Il serait donc nécessaire de mettre au point pour ces régions des inhibiteurs plus stables, mais ne présentant, bien entendu, aucune phytotoxicité.

b) PESTICIDES

Le développement généralisé de l'emploi des pesticides (herbicides, nématicides, insecticides, fongicides) pose la question de l'influence de ces produits sur certaines fonctions importantes de la microflore tellurique et en particulier sur la nitrification.

Les recherches effectuées depuis plus de dix ans dans ce domaine ont effectivement révélé que certains pesticides sont des inhibiteurs très actifs ; nous citerons à titre d'exemple : la chloropicrine, le bromure de méthyle, le dibromure d'éthylène, le DD (mélange de 1,3-dichloropropène et de 1,2-dichloropropane), le Vapam (N-méthyl-dithiocarbamate de sodium).

Cette inhibition de la nitrification peut s'avérer utile si l'on cherche — comme avec les inhibiteurs décrits au paragraphe précédent — à réduire les pertes d'azote par lessivage et par dénitrification. Par contre, elle s'avère nuisible si la plante cultivée (Tabac par exemple) à laquelle on applique le pesticide préfère l'azote nitrique à l'azote ammoniacal : il est alors nécessaire de conjuguer l'apport d'azote nitrique à l'application du pesticide inhibiteur (ALEXANDER, 1965b).

6° Végétation et type pédologique

Par l'intermédiaire de leurs litières, les formations forestières inhibent souvent la nitrification. En région tempérée, lorsque l'horizon de surface est de type *mor* (humus brut), la nitrification est très discrète ou même absente (voir, par exemple, BERNIER et ROBERGE, 1962 ; LEMÉE, 1967a). L'inhibition de l'activité nitrifiante dans ces sols pourrait être due à l'intervention de substances antimicrobiennes : 1° d'origine végétale (composés hydrosolubles de litières de certaines espèces) ; 2° d'origine microbienne (composés synthétisés par les micro-organismes dans les foyers d'anaérobiose). L'action de ces substances se manifeste surtout dans les sols acides ou mal tamponnés. Elle disparaît sous l'effet de la mise en culture et du labour. En région tropicale humide, de nombreuses formations forestières exercent, par l'intermédiaire de leurs litières,

une action inhibitrice vis-à-vis des micro-organismes nitrificateurs ; cette action est levée par le défrichement suivi d'incendie (DOMMERGUES, 1952b). Par contre, les sols des forêts de région tropicale sèche hébergent souvent des micropopulations de Bactéries nitrifiantes relativement denses (DOMMERGUES, 1956b ; MEIKLEJOHN, 1962).

La végétation influe aussi indirectement sur la nitrification en agissant sur la composition de la matière organique du sol. C'est ainsi qu'un sol cultivé en Luzerne pendant sept ans renferme plus d'azote hydrolysable sous forme α -aminée qu'un même sol cultivé en Brome ou en Maïs ; parallèlement, le pourcentage d'azote nitrifiable est plus élevé sous Luzerne (tableau XXXVI). Le problème de la nitrification dans la rhizosphère sera évoquée page 572.

TABLEAU XXXVI. — INFLUENCE DE L'ESPÈCE VÉGÉTALE SUR LA TENEUR DE LA MATIÈRE ORGANIQUE EN AZOTE HYDROLYSABLE SOUS FORME α -AMINÉE ET SUR LA NITRIFICATION DE L'AZOTE TOTAL
(GUPTA et REUSZER, 1967)

ESPÈCE VÉGÉTALE CULTIVÉE 7 ANS DE SUITE	C %	N %	C/N	pH	POURCENTAGE D'AZOTE α -AMINÉ PAR RAPPORT À L'AZOTE TOTAL	POURCENTAGE D'AZOTE TOTAL NITRIFIÉ EN 9 SEMAINES
Luzerne	3,10	0,31	10,0	6,5	37,6	4,6
Brome grass (<i>Bromus inermis</i>)	3,08	0,29	10,6	6,2	34,4	2,9
Maïs	2,52	0,27	9,31	6,4	31,7	3,1

N. B. — 99 % des nitrates se forment au cours des sept premières semaines d'incubation ; la production de nitrates est ensuite très faible.

D. — LE CYCLE INTERNE DE L'AZOTE DANS LE SOL

I. — NOTION DE CYCLE D'IMMOBILISATION-MINÉRALISATION OU CYCLE INTERNE DE L'AZOTE

INTERFÉRENCE DES PROCESSUS DE STABILISATION

Lorsque l'azote minéral du sol est assimilé par les micro-organismes telluriques, il entre dans des combinaisons organiques à l'intérieur des cellules microbiennes et cesse d'être utilisable pour les végétaux supérieurs : on dit qu'il y a *immobilisation (brute)*

ou *réorganisation (brute)* de l'azote ⁽¹⁾. A la mort des micro-organismes, ou à la suite de processus d'excrétion, les combinaisons azotées organiques sont libérées dans le sol, où elles subissent diverses transformations qui aboutissent à des formes plus ou moins stables ou même labiles qui, par minéralisation ultérieure, redonnent les *formes minérales initiales* parfaitement assimilables par les végétaux.

L'azote minéral du sol peut non seulement être immobilisé dans les cellules microbiennes, mais encore dans les tissus des végétaux. Comme l'azote organique microbien, l'azote organique des tissus végétaux peut à nouveau être minéralisé après la mort de ces tissus (litière, racines mortes).

L'ensemble des transformations cycliques qui, par l'intermédiaire des végétaux, conduisent des formes minérales aux formes organiques puis, par l'intermédiaire des micro-organismes telluriques (décomposeurs), conduisent des formes organiques aux formes minérales, est désigné sous le nom de *cycle biogéochimique* et plus rarement sous celui de cycle externe. Les transformations homologues qui consistent aussi dans la succession de processus d'immobilisation (brute) et de minéralisation (brute) et qui sont le fait *exclusif* de la microflore tellurique constituent le *cycle interne de l'azote* (JANSSON, 1958) ou *cycle d'immobilisation-minéralisation* car elles se déroulent à l'intérieur même du sol, alors que le cycle biogéochimique, qui est lié à la végétation, implique un passage de l'élément azote hors du sol (fig. 39).

Les deux processus, minéralisation brute et immobilisation brute, se développent simultanément dans le sol, de sorte qu'on observe seulement un *effet net*, différence entre ces deux processus. Lorsque les processus de minéralisation brute l'emportent sur ceux d'immobilisation brute, il y a accumulation d'azote minéral dans le sol : on dit qu'il y a *minéralisation nette*. Inversement, si les processus d'immobilisation brute surclassent les processus de minéralisation brute, la teneur en azote minéral du sol diminue : il y a *immobilisation nette*. Sur le plan agronomique, c'est la minéralisation nette qui importe, puisqu'en définitive l'approvisionnement en azote des plantes se fait à partir de l'azote minéral effectivement présent dans le sol.

Au processus d'immobilisation de nature biologique se superpose le processus de réversion de nature non biologique (cf. p. 196), qui masque plus ou moins la minéralisation de certaines formes d'azote très facilement minéralisables telles que l'azote microbien (azote incorporé dans les protéines des cellules microbiennes) ⁽²⁾ : l'azote

(1) Le premier terme — immobilisation — préconisé par la Société américaine de Science du Sol (WINSOR, 1958) présente l'inconvénient de laisser supposer qu'il s'agit d'un blocage de longue durée alors qu'il correspond, en fait, à un état transitoire. Le deuxième terme — réorganisation — n'est pas critiquable sur ce plan mais est peu employé par les microbiologistes du sol, bien que les agronomes français l'utilisent volontiers (DROUINEAU, 1965). C'est le terme d'*immobilisation* que nous adopterons ici.

(2) La rapidité de la minéralisation dans le sol de l'azote des cellules et tissus microbiens a été démontrée par de nombreux auteurs (KUO et BARTHOLOMEW, 1963 ; CHU et KNOWLES, 1966).

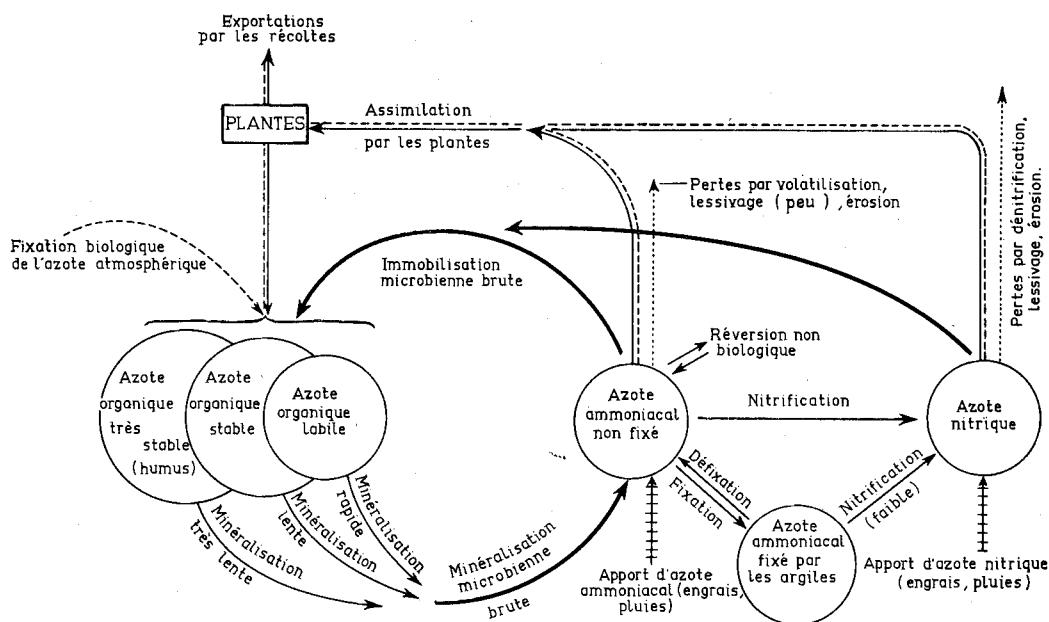


FIG. 39. — *Cycle interne de l'azote.* Le cycle interne de l'azote (syn. : cycle d'immobilisation-minéralisation) est représenté par un trait continu épais. Le cycle externe de l'azote (syn. : cycle biogéochimique) est représenté par un trait continu doublé d'un trait interrompu. Sur ce diagramme, on a distingué arbitrairement trois degrés dans la stabilité de l'azote organique du sol ; en fait, il existe tous les intermédiaires entre les formes stables (par exemple : azote humique) et les formes franchement labiles (par exemple : acides aminés libres).

minéral qui résulte de la minéralisation de l'azote microbien peut, dès sa formation, être bloqué dans des combinaisons stables avec certains composés organiques du sol.

Il existe des relations d'interdépendance entre le cycle interne et le cycle externe de l'azote ; sont particulièrement importantes, celles qui sont liées à la compétition, très vive vis-à-vis de l'azote minéral, qui apparaît entre les plantes et les micro-organismes, lorsque ces derniers disposent d'un substrat énergétique abondant : dans ce cas, la plus grande partie de l'azote minéral disponible est incorporée au cycle interne, car le pouvoir compétitif des micro-organismes est nettement supérieur à celui des plantes.

II. — CINÉTIQUE DES PROCESSUS D'IMMOBILISATION-MINÉRALISATION

Lorsqu'on incorpore un substrat carboné facilement métabolisable (paille, par exemple) à un sol renfermant au préalable une certaine quantité d'azote minéral, on constate les faits suivants (fig. 40) :

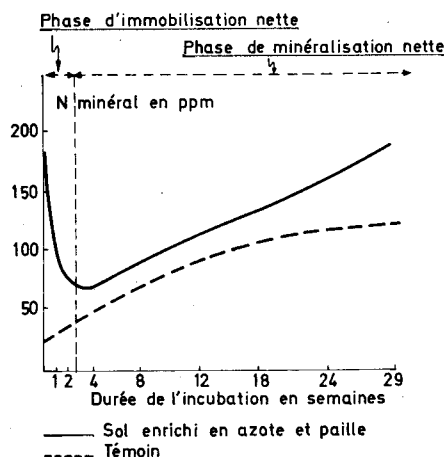


FIG. 40. — Variations en fonction du temps de la teneur en azote minéral d'un sol ayant reçu un apport d'azote nitrique (160 ppm) et de paille de Blé (1 %) (NOMMIK, 1962).

1° dans une première phase de courte durée (phase d'immobilisation nette), la teneur en azote minéral du sol s'effondre par suite de la prédominance des processus d'immobilisation brute sur les processus de minéralisation brute ;

2° dans une deuxième phase (phase de minéralisation nette), la teneur en azote minéral du sol remonte à nouveau, mais lentement, pour atteindre et parfois dépasser le niveau initial, si la température est suffisante (cf. p. 446). Dans cette deuxième phase, les processus de minéralisation brute l'emportent sur les processus d'immobilisation brute ; mais ils sont freinés vraisemblablement par le fait que le stock d'azote labile est faible et qu'ils portent en partie sur des composés azotés relativement difficiles à biodégrader (azote organique moyennement stable).

L'étude cinétique des processus d'immobilisation-minéralisation de l'azote est fondée sur la mesure du *turnover time* ou *temps de renouvellement* ⁽¹⁾, c'est-à-dire du temps

(1) Cette notion de *turnover* ne s'applique pas seulement au cycle interne de l'azote ; elle a une portée beaucoup plus générale puisqu'elle intéresse tous les processus qui, dans le cadre d'écosystèmes plus ou moins complexes, se traduisent par la libération ou l'incorporation d'une substance ou d'un élément dans une des composantes de l'écosystème (par exemple :

s'écoulant entre le moment où l'azote minéral est immobilisé sous forme organique et celui où cet azote organique est à nouveau minéralisé. Le *turnover rate* ou *taux de renouvellement* est l'inverse du temps de renouvellement.

Le temps de renouvellement varie considérablement.

Aux temps de renouvellement courts, correspondraient des fluctuations de l'ordre d'une journée seulement, mais parfois importantes (20 kg/ha), de la teneur du sol en azote minéral (HÉBERT et KOTTELANGE, 1965). Mais l'existence de telles fluctuations est mise en doute par certains auteurs, pour lesquels il s'agirait d'un artefact dû à la grande hétérogénéité du sol.

Un temps de renouvellement moyen ou long induit un *arrière-effet* moyen ou long des fumures minérales azotées. Des immobilisations de l'ordre du lustre et de la décennie ont été mises nettement en évidence au champ par GADET et SOUBIES (1965), BARBIER et CHABANNES (1965).

III. — FACTEURS ÉCOLOGIQUES RÉGISSANT LE PROCESSUS GLOBAL DE MINÉRALISATION NETTE DANS LE SOL

Parmi les facteurs les plus importants, nous examinerons la matière organique, l'azote minéral, le pH, l'humidité et l'aération, la température ; quant à la végétation, son rôle a été évoqué antérieurement (p. 195).

1° Matière organique incorporée au sol : le rapport C/N

Pour prévoir l'importance de l'immobilisation nette (ou inversement de la minéralisation nette) dans le sol lors de l'incorporation spontanée ou non d'un substrat organique, on a habituellement recours au critère du rapport C/N (carbone total/azote total). On admet en général que le rapport C/N critique au-dessous duquel la minéralisation nette apparaît est compris entre 20 et 25 (HARMSSEN et VAN SCHREVEN, 1955). Ainsi, l'adjonction au sol d'un substrat à C/N faible (protéine, par exemple) favorise considérablement la minéralisation brute par rapport à l'immobilisation brute de sorte que le sol s'enrichit en azote minéral (azote ammoniacal et éventuellement nitrique, si le milieu est favorable à la nitrification) : *un substrat à C/N faible favorise donc la minéralisation nette. Inversement, un substrat à C/N élevé (paille, par exemple) favorise l'immobilisation nette.*

composante végétation ; composante microflore ; composante solution du sol ; composante matière organique du sol). Dans ces conditions, on peut donner du *turnover time* une définition plus générale : c'est le temps nécessaire au renouvellement complet de la substance ou de l'élément considéré dans une composante donnée de l'écosystème (ODUM, 1959).

Cette règle n'est valable que si la fraction carbonée et la fraction azotée des substrats sont l'une et l'autre susceptibles d'être minéralisées sensiblement à la même vitesse. Il n'en est plus de même lorsque l'une des deux fractions résiste à la minéralisation alors que l'autre est facilement minéralisable. Ainsi, à des résidus végétaux à rapport C/N élevé, mais riches en lignine, peut correspondre une minéralisation nette importante (BREMNER et SHAW, 1957; BERNIER et ROBERGE, 1962) car la fraction carbonée, composée essentiellement de lignine, est difficilement minéralisable, alors que la fraction azotée est minéralisée rapidement. Dans de tels cas, le rapport C/N critique s'élève à 30 ou plus. Inversement, pour des résidus végétaux riches en hydrates de carbone rapidement minéralisables, le rapport C/N critique peut être bien inférieur à 20 (DOMMERGUES, 1962).

Il résulte de ces faits que la minéralisation nette dépend en fait non pas du rapport C/N (carbone total/azote total), mais du rapport C_m/N_m (carbone facilement minéralisable/azote facilement minéralisable).

2° Azote minéral

L'application au sol d'azote minéral stimule souvent fortement la minéralisation nette de l'azote organique du sol (LIBOIS, 1968); ainsi, l'adjonction à des parcelles nues de 120 kg N/ha sous forme de nitrate d'ammonium induit une augmentation de 320 kg N/ha de la teneur du sol en azote minéral (CHABANNES et BARBIER, 1967). Mais on ignore si cette stimulation résulte d'une accélération de la minéralisation brute⁽¹⁾ ou d'une inhibition des processus d'immobilisation microbienne. Seul, l'emploi de ^{15}N comme traceur permettrait d'éclaircir cette énigme (LIBOIS, 1968).

Inversement, il est des cas où l'apport de fumures minérales azotées réduit cette minéralisation nette (GADET et SOUBIES, 1963).

3° pH

L'ammonification est beaucoup moins sensible au pH que la nitrification (cf. p. 207); la différence s'explique fort bien encore par le fait que la microflore ammonifiante est composée de micro-organismes dont les exigences vis-à-vis du pH couvrent, dans leur ensemble, une gamme très étendue.

Cette tolérance de l'ammonification vis-à-vis du pH est responsable de l'accumulation d'azote ammoniacal qu'on observe dans les sols acides où la nitrification est impossible. Dans les sols alcalins, une telle accumulation est très rare, vraisemblablement parce que l'ammonium est nitrifié ou volatilisé.

⁽¹⁾ Cette stimulation — en admettant qu'elle existe — rappelle le phénomène de stimulation de minéralisation de la matière organique préexistant dans le sol lors d'un apport de matière organique fraîche (engrais verts, par exemple) et que l'on désigne sous le terme d'*effet d'activation*, d'*effet de stimulation*, ou de *priming effect* (p. 336).

Les pH très bas nuisent à la minéralisation nette ; c'est ce qui explique, partiellement au moins, l'accumulation de matière organique dans les sols très acides.

4° Humidité et aération

La microflore ammonifiante est composée d'éléments aérobies et anaérobies de sorte que l'ammonification du sol apparaît aussi bien dans les sols peu ou pas aérés (engorgés) que dans des sols bien aérés (ressuyés). Dans le premier cas, la minéralisation de l'azote s'arrête au stade ammoniacal, car la nitrification n'apparaît pas en général dans de telles conditions. Dans le deuxième cas, elle va jusqu'au stade nitrate. Bien que très tolérante sur le plan de l'humidité, l'ammonification semble présenter, tout au moins dans certains sols, une nette préférence pour l'hydromorphie. On a déjà évoqué la question de la dégradation anaérobie des protéines à la page 189. En ce qui concerne les exigences minimales en eau, on a démontré que l'ammonification pouvait subsister à des pF élevés, de l'ordre de 5,4 à 5,6 (DOMMERGUES, 1962). La dessiccation exerce un effet stimulant secondaire très net sur l'ammonification (BIRCH et FRIEND, 1956). Cet effet stimulant est d'autant plus marqué que les cycles de dessiccation et d'humectation sont plus nombreux (cf. p. 423).

5° Température

Comme l'éventail thermique de la nitrification est plus resserré que celui de l'ammonification, la minéralisation aboutit à l'accumulation d'azote ammoniacal lorsque le sol se trouve soit à une température faible (inférieure à 5 °C), soit à une température élevée (supérieure à 35 ou 40 °C).

IV. — CONSÉQUENCES PRATIQUES DE L'EXISTENCE DU CYCLE INTERNE DE L'AZOTE ET DES PROCESSUS DE STABILISATION DE L'AZOTE ORGANIQUE

1° *Le rendement des engrais minéraux azotés est toujours inférieur à 100 %, même si l'on tient compte des pertes par dénitrification, volatilisation ou lessivage.* En effet, lorsqu'on applique au sol un engrais minéral azoté, une fraction importante (5 à 25 %, parfois même 50 %) de cet azote minéral est immobilisé et stabilisé (JANSSON, 1963 ; LEFEVRE et coll., 1965). Nous donnons ci-dessous à titre d'exemple les résultats obtenus en serre par LEGG (tableau XXXVII).

2° *La fumure minérale azotée induit une arrière-action.* L'azote immobilisé est en effet progressivement minéralisé et est aussi en partie récupéré par les cultures postérieures à celles qui ont reçu l'application d'engrais (cf. p. 215).

TABLEAU XXXVII. — DEVENIR D'UN ENGRAIS MINÉRAL AZOTÉ MARQUÉ
APPLIQUÉ À UN SOL CULTIVÉ
(d'après LEGG, cité par ALLISON, 1964)

APPORT D'ENGRAIS AZOTE MINÉRAL ¹⁵ N EN PPM	POURCENTAGE D'AZOTE ¹⁵ N RETROUVÉ DANS				POURCENTAGE D'AZOTE MINÉRAL PERDU (volatilisation et dénitrification)
	la première récolte (Avoine)	les deux récoltes successives de <i>Sorghum vulgare</i>		le sol (azote immobilisé)	
		Parties aériennes	Racines		
50	52,8	7,3	2,4	27,5	10,0
100	57,9	7,4	2,0	21,5	11,2
200	66,2	7,8	1,6	15,1	9,3

3° L'azote minéral ajouté au sol est dilué dans l'azote minéral d'origine tellurique. Les plantes et les micro-organismes utilisent indistinctement l'azote minéral apporté par les engrais et l'azote minéral d'origine tellurique, l'un étant dilué dans l'autre une fois qu'il est incorporé au sol. Il en résulte que, lorsqu'on utilise l'azote marqué pour

TABLEAU XXXVIII. — DILUTION DANS LE SOL D'UN ENGRAIS AZOTÉ MARQUÉ
(d'après CLARK, 1964)

	PARCELLE TÉMOIN SANS ENGRAIS	PARCELLE AYANT REÇU L'ENGRAIS MINÉRAL MARQUÉ
Minéralisation brute (azote d'origine tellurique)	60 kg	60 kg
Apport d'azote ¹⁵ N	0 kg	60 kg
Immobilisation brute	30 kg portant sur l'azote tellurique	30 kg portant pour moitié sur l'azote tellurique et pour moitié sur l'azote marqué
Minéralisation nette (mesurée par l'azote absorbé par les plantes)	30 kg	90 kg dont 45 kg proviennent de l'azote tellurique et 45 kg de l'azote marqué

établir des bilans et évaluer notamment les pertes d'azote, il est nécessaire de tenir compte non seulement de la teneur en ^{15}N des récoltes mais aussi de la teneur en ^{15}N du sol. Bien que très schématique, l'exemple idéal suivant imaginé par CLARK (1964) illustre bien ce fait (tableau XXXVIII). Considérons un sol sans engrais, dans lequel la minéralisation brute d'azote est de 60 kg/ha et l'immobilisation brute est de 30 kg, la minéralisation nette est de 30 kg, ces 30 kg d'azote minéralisé étant entièrement disponibles pour les plantes. Ajoutons à un tel sol 60 kg d'engrais azoté marqué. En supposant : 1° que les plantes utilisent indistinctement l'azote minéral d'origine tellurique et l'azote minéral marqué ; 2° que l'apport minéral ne modifie pas sensiblement les processus de minéralisation et d'immobilisation (ce qui n'est pas vrai pour les fortes applications d'engrais, cf. p. 216) ; 3° qu'il n'y a aucune perte d'azote (ce qui est exceptionnel), le sol met à la disposition des plantes 90 kg d'azote minéral dont 45 kg sont d'origine tellurique et 45 kg proviennent de l'engrais marqué. Il en résulte que l'analyse de l'azote marqué dans les tissus végétaux (récoltes) indique une absorption de 75 % de l'engrais appliqué et non une absorption de 100 % que l'on aurait pu attendre étant donné que, dans l'exemple considéré, les pertes sont supposées nulles.

E. — LA DÉNITRIFICATION BIOLOGIQUE

I. — GÉNÉRALITÉS

1° Définition agronomique de la dénitrification

Le terme de dénitrification *sensu lato* désigne le mécanisme respiratoire par lequel certains micro-organismes se développant en anaérobiose utilisent les nitrates et d'autres composés oxygénés de l'azote minéral comme accepteurs finals d'électrons à la place de l'oxygène. Les produits ultimes de la dénitrification *sensu lato* sont des composés azotés plus ou moins réduits : NO_2^- , N_2O , N_2 , NH_3 . Cette définition est celle adoptée par de nombreux microbiologistes. Par contre, les biologistes du sol et les agronomes donnent au terme de dénitrification un sens plus restreint : par dénitrification, ils entendent le processus microbien par lequel les nitrates (et accessoirement les nitrites) sont réduits à l'état de produits gazeux (azote moléculaire, oxyde nitreux) qui s'échappent du sol et sont ainsi perdus. Le terme de dénitrification pris dans son sens agronomique ou *dénitrification vraie* ne constitue donc qu'un cas particulier de la dénitrification *sensu lato*.

La dénitrification *sensu lato* est également connue sous le nom de *réduction dissimilative des nitrates* (*dissimilatory nitrate reduction* ou *nitrate respiration* des auteurs anglo-saxons), par opposition à la réduction assimilative des nitrates (*assimilatory*

nitrate reduction ou *nitrate assimilation*), qui consiste dans la réduction de l'azote nitrique ou nitreux sous forme ammoniacale pour servir ultérieurement à la synthèse des acides aminés et des protéines à l'intérieur des cellules microbiennes.

2° Dénitrification biologique et dénitrification chimique

A côté de la *dénitrification biologique* que nous venons de présenter, il existe une *dénitrification chimique* (chimio-dénitrification) résultant de l'instabilité des nitrites dans le sol. Nous évoquerons ce dernier processus lors de l'étude du bilan de l'azote (cf. p. 230) ; mais nous noterons dès à présent que, si la dénitrification biologique est un *processus anaérobie*, la dénitrification non biologique semble, au contraire, n'impliquer aucune anaérobiose (CLARK, 1962).

3° Etapes de la dénitrification

Différents schémas ont été proposés pour expliquer la succession des réactions impliquées dans la dénitrification à l'état d'oxyde nitreux et d'azote moléculaire d'une part et à l'état d'azote ammoniacal d'autre part. Nous présenterons d'abord le schéma de KLUYVER (1953) puis celui, plus récent, de CAMPBELL et LEES (1967).

a) *Théorie de KLUYVER*. — D'après cet auteur : 1° la réduction de l'azote nitrique en oxyde nitreux et en azote moléculaire résulte d'une *dimérisation* d'un composé intermédiaire HNO (nitroxyle) très instable ; 2° la réduction de l'azote nitrique en ammoniac suit une voie différente *n'impliquant pas une dimérisation* du composé intermédiaire (fig. 41).

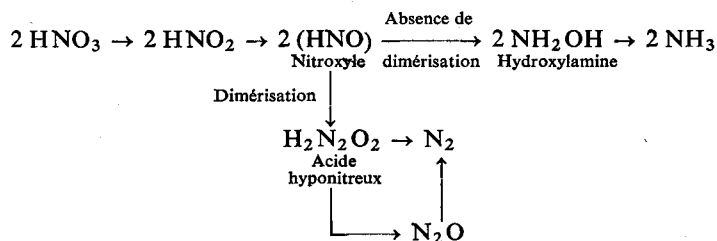


FIG. 41. — Schéma général de la dénitrification proposé par KLUYVER (1953).

b) *Théorie de CAMPBELL et LEES*. — Partant de l'idée que certains produits intermédiaires de la dénitrification et de la nitrification peuvent être identiques, ces auteurs admettent que la nitrohydroxylamine (composé qui pourrait apparaître au cours de la nitrification ainsi qu'on l'a signalé p. 199) se formerait également au cours de la dénitrification. En milieu modérément anaérobie, ce composé donnerait naissance à de l'ammoniac ; en milieu anaérobie strict, il donnerait naissance à de

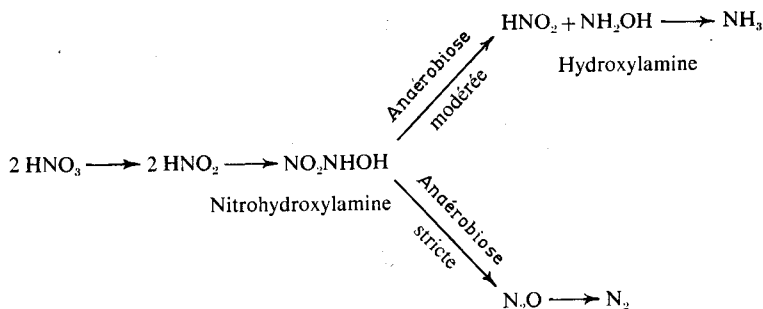
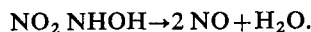


FIG. 42. — Schéma général de la dénitrification proposé par CAMPBELL et LEES (1967).

l'oxyde nitreux et à de l'azote moléculaire (fig. 42). Dans certaines conditions, la nitrohydroxylamine pourrait aussi se décomposer en oxyde nitrique, composé dont la présence a parfois été signalée au cours de la dénitrification (voir, par exemple, CADY et BARTHOLOMEW, 1961) :



Cette dernière réaction est cependant considérée comme peu probable par BROADBENT et CLARK (1965), qui pensent que l'oxyde nitrique détecté proviendrait plutôt d'une réaction chimique de décomposition de l'acide nitreux.

La théorie de CAMPBELL et LEES présente l'intérêt de tenir compte des divers composés qui, jusqu'à présent, ont été décelés au cours de la dénitrification ; elle pourrait, en outre, expliquer le fait qu'en milieu modérément anaérobie, la dénitrification tend à produire de l'ammoniaque, alors qu'en conditions anaérobies strictes, elle tend à produire de l'oxyde nitreux et de l'azote moléculaire.

En ce qui concerne les systèmes enzymatiques impliqués dans les différentes étapes de la dénitrification, ils sont complexes et l'on commence seulement à bien connaître ceux qui, intervenant aux premiers stades de la dénitrification, réduisent les nitrates en nitrites, tels les complexes nitrate-réductases étudiés en particulier par PICHINOTY (1963, 1965).

4° Micro-organismes dénitrificateurs vrais

Les espèces microbiennes capables de dénitrifier l'azote jusqu'au stade N_2 ou N_2O (et non pas seulement jusqu'au stade NO_2^-), c'est-à-dire les espèces dénitrifiantes vraies, sont, en fait, assez peu nombreuses. Ce sont essentiellement des Bactéries appartenant aux genres *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Micrococcus*, *Spirillum*. L'aptitude à la dénitrification vraie ne semble pas avoir été démontrée chez les Actinomycètes ; elle n'a jamais encore été signalée chez les Champignons. Bien plus, les espèces qui,

in vitro, sont considérées comme des dénitrificateurs vrais, ne présentent pas toutes la même activité dans le sol. Ainsi, WOLDENDORP (1963, 1965) considère seulement comme réellement actives, dans la rhizosphère, les Bactéries : *Pseudomonas aeruginosa*, *Achromobacter* sp., *Bacillus macerans*, alors que les espèces suivantes sont inactives : *Bacillus licheniformis*, *Bacillus cereus*, *Spirillum itersonii*, *Spirillum* sp. (fig. 43).

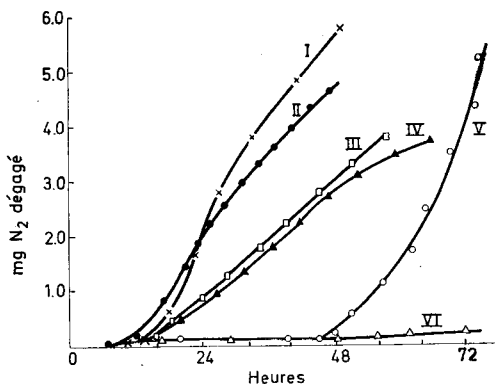
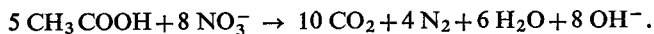
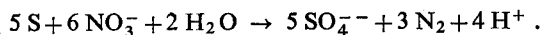


FIG. 43. — Activité dénitrifiante de différentes Bactéries cultivées sur milieu à base d'extraits racinaires de Pois (WOLDENDORP, 1963). Germes dénitrifiant activement : I. *Pseudomonas* sp. ; II. *Ps. aeruginosa* ; III, *Achromobacter* sp. ; IV. *Bacillus macerans* ; V, *Micrococcus denitrificans*. Germes ne dénitrifiant pas activement : VI. *B. cereus*, *B. licheniformis*.

Les micro-organismes dénitrificateurs sont essentiellement des *micro-organismes chimio-organotrophes* qui, en anaérobiose, oxydent le substrat organique dont ils disposent suivant des réactions du type :



Mais il existe aussi quelques *micro-organismes chimiolithotrophes* capables de réduire les nitrates à l'état d'azote moléculaire. Ce sont en particulier : *Micrococcus denitrificans*, chimiolithotrophe facultatif qui oxyde l'hydrogène aux dépens du nitrate, et *Thiobacillus denitrificans*, qui diffère des autres *Thiobacillus* par le fait qu'il peut se développer en anaérobiose à condition qu'il dispose de nitrate en quantité suffisante, la réaction globale d'oxydation du soufre s'écrivant sous la forme :



II. — AUTÉCOLOGIE DES MICRO-ORGANISMES DÉNITRIFICATEURS

Nos connaissances actuelles portent essentiellement sur le rôle du facteur oxygène. Pendant longtemps, les microbiologistes ont été divisés sur ce point, les uns affirmant que la dénitrification pouvait apparaître en aérobie, les autres affirmant que ce processus était exclusivement anaérobie. Ces controverses, dues à des difficultés expérimentales, sont actuellement apaisées ; tous les auteurs admettent maintenant que la dénitrification ne peut se manifester que si le taux d'oxygène dans le milieu ne dépasse

pas un certain seuil qui est très bas ; SKERMAN et MACRAE (1957) ont ainsi montré que ce seuil dans un milieu liquide est de l'ordre de 0,2 ppm pour *Pseudomonas denitrificans*. PICHINOTY (1965) a prouvé que l'oxygène exerce sur la dénitrification une double action : il réprime la formation des nitrate-, nitrite- et oxyde nitreux-réductases et inhibe la fonction de deux de ces enzymes : les nitrate- et nitrite-réductases.

III. — FACTEURS ÉCOLOGIQUES RÉGISSANT LE PROCESSUS GLOBAL DE DÉNITRIFICATION DANS LE SOL

La dénitrification biologique n'apparaît que lorsque les trois conditions suivantes sont réunies :

- 1° présence d'azote sous forme nitrique ou nitreuse ;
- 2° absence d'oxygène ;
- 3° teneur suffisante en substances donatrices d'électrons.

Mais, en dehors de ces facteurs, il est nécessaire de tenir compte également du pH, de l'humidité, de la température et de la végétation qui jouent un rôle important.

1° Présence d'azote sous forme nitrique (ou nitreuse)

Par définition, la dénitrification porte sur l'azote sous forme nitrique ou nitreuse. Dans le sol les pertes d'azote par dénitrification ne peuvent donc se manifester que si, à un moment donné, dans un site donné, l'azote minéral se trouve sous cette forme. Il peut s'agir d'azote nitrique formé *in situ* ou d'azote nitrique apporté.

L'azote nitrique qui apparaît *in situ* résulte de la nitrification, processus aérobie qui se développe pendant les périodes où le sol est bien aéré (cf. hygropériodisme) ou dans les foyers d'aérobiose.

L'azote nitrique peut aussi être apporté au sol par les fumures ou amené en un horizon donné du profil par lessivage vertical ou oblique. L'azote ammoniacal peut induire une dénitrification notable si, après son application, il est nitrifié. Ainsi l'application en surface de sulfate d'ammoniaque dans un sol de rizière peut entraîner des pertes d'azote par dénitrification, si dans l'horizon supérieur du profil le sulfate d'ammoniaque est nitrifié et le nitrate ainsi formé est lessivé ultérieurement dans un horizon où les conditions sont favorables à la dénitrification (anaérobiose, présence de matière organique métabolisable en quantité suffisante).

2° Influence de la teneur du milieu en oxygène. Rôle de l'humidité

a) *Influence de la teneur du milieu en oxygène.* — L'influence de la tension d'oxygène sur la dénitrification a fait l'objet de controverses encore plus longues et plus vives dans le cas du sol que dans celui des cultures pures. En réalité, le caractère apparemment contradictoire des résultats de nombreuses expériences conduites avec le sol lui-même provient uniquement du fait que les conditions expérimentales ont été souvent très mal définies. Beaucoup de chercheurs ont cru pouvoir être maîtres de la teneur en oxygène dans l'ensemble du sol en réglant simplement la composition de l'atmosphère externe en contact avec le sol. Cette façon de procéder est incorrecte, car l'équilibre entre l'atmosphère externe d'une part, la phase gazeuse (atmosphère interne) et les gaz dissous dans la phase liquide du sol d'autre part, n'est jamais réalisé en raison de l'existence dans le sol de foyers de consommation d'oxygène irrégulièrement distribués et en raison de l'irrégularité de la diffusion de l'oxygène dans le sol (cf. par. b, ci-dessous).

Il est préférable, pour aborder ce problème, de se fonder sur une expérimentation tenant compte de la teneur en oxygène de la solution du sol comme l'a fait GREENWOOD (1963). Cet auteur estime que la dénitrification dans le sol apparaît lorsque la teneur en oxygène dissous dans la solution du sol atteint un seuil assez bas. Ce seuil est d'ailleurs du même ordre de grandeur que le seuil déterminé par SKERMAN et MACRAE (1957) avec le *Pseudomonas denitrificans* en culture pure (0,2 ppm).

b) *Rôle de l'humidité.* — La teneur du sol en oxygène est partiellement sous la dépendance de l'humidité puisque ce facteur régit, dans une grande mesure, la diffusion de l'oxygène. On conçoit très bien alors que, dans des sols très humides, la dénitrification puisse se développer très vigoureusement si les deux autres conditions fondamentales sont réunies, à savoir : présence de nitrate et d'un donneur d'électrons. Ce fait a été vérifié par de nombreux auteurs (NOMMIK, 1956 ; BREMNER et SCHAW, 1958 ; SCHAEFER, 1961 ; VAN SCHREVEN, 1963b ; EKPETE et CORNFELD, 1964).

Mais l'expérience montre que la dénitrification peut se manifester également dans des sols bien drainés ne présentant aucun symptôme d'anaérobiose (MCGARITY, 1961 ; GREENWOOD, 1962 ; EKPETE et CORNFELD, 1964). Cette anomalie apparente s'explique par le fait qu'un sol bien aéré comporte toujours des microhabitats dont certains sont particulièrement favorables au développement des processus de dénitrification. Ces foyers d'anaérobiose se situent en particulier :

- dans la rhizosphère ;
- dans la zone interne des agrégats (cf. p. 480) ;
- à proximité ou au contact des débris organiques.

Les foyers anaérobies se multiplient ou s'étendent lorsque la structure est défec-
tueuse, lorsque la température s'élève, lors de l'addition de matière organique. GREENWOOD (1963) considère que la coexistence dans un sol ressuyé de foyers aérobie (favo-

rables à la nitrification) et anaérobies (favorables à la dénitrification), pourrait, dans certaines conditions, accélérer les pertes d'azote par dénitrification. En effet, dans un tel milieu, la nitrification n'est pas gênée par l'acidification résultant de l'accumulation d'acide nitrique puisque celui-ci diffuse au fur et à mesure de sa formation vers les zones d'anaérobiose où il est dénitrifié. De son côté, la dénitrification n'est pas ralentie par une élévation du pH car les produits basiques qui résultent de cette activité sont neutralisés par l'acide nitrique.

Dans les sols bien aérés ou dans les foyers d'aérobiose, la *dénitrification chimique* (cf. p. 230) prendrait le relais de la dénitrification biologique.

3° Influence de la teneur du sol en substances donatrices d'électrons

Nous examinerons ici uniquement le cas des substances organiques. *La dénitrification biologique est d'autant plus intense que le sol est riche en matière organique métabolisable par la microflore dénitrifiante chimio-organotrophe.* Ainsi, dans des sols hydro-morphes à *anmoor* d'Alsace, SCHAEFER (1961) a montré que la dénitrification est plus intense dans les horizons de surface, riches en matière organique, que dans les horizons plus profonds, moins riches en matière organique, bien que, dans ces derniers horizons, l'anaérobiose semble mieux établie. Etudiant les sols brun rouge et les sols noirs de la région d'Adélaïde, en Australie du Sud, MCGARITY (1961) a mis en évidence l'existence d'une corrélation positive entre l'intensité de la dénitrification et la teneur en carbone de chaque type de sol étudié. L'addition au sol de matière organique facilement décomposable stimule la dénitrification, sauf dans le cas de sols naturellement riches en matière organique. Cet effet stimulant est dû, non seulement à l'enrichissement du sol en substances énergétiques donatrices d'électrons, mais aussi à l'épuisement rapide du milieu en oxygène par suite de l'intense prolifération microbienne.

4° Influence d'autres facteurs

a) **pH.** — La dénitrification est un processus neutrophile puisque son pH optimal se situe entre 7,0 et 8,6. Mais il est suffisamment tolérant à l'acidité pour supporter un pH de 5,0 ; au-dessous de cette limite, la dénitrification s'arrête ou s'affaiblit considérablement. Le pH maximal est de l'ordre de 10,5.

Le pH du sol influe non seulement sur la quantité totale des produits gazeux formés (N_2O et N_2), mais sur leur proportion relative. Au-dessus du pH 7,0, l'oxyde nitreux (N_2O) est peu abondant, car il est facilement réduit en N_2 , mais au-dessous du pH 6,0, cette réduction est fortement inhibée (WILLER et DELWICHE, 1954). Il convient de noter à ce propos que, dans les sols acides, une partie de l'oxyde nitreux dégagé proviendrait d'une décomposition de l'acide nitreux et non du processus biologique de dénitrification (CADY et BARTHOLOMEW, 1961).

Une dénitrification active induit normalement une élévation importante du pH du milieu de culture ; dans le sol, l'élévation du pH au cours de la dénitrification peut être de 0,3 à 0,5 unité.

b) Température. — La température optimale de dénitrification est très élevée : elle se situe en effet aux environs de 60-65 °C (NOMMIK, 1956 ; BREMNER et SHAW, 1958).

A basse température, il se dégage plus de N_2O que de N_2 ; lorsque la température est plus élevée, c'est l'inverse, vraisemblablement parce que la température élevée favorise la réduction de N_2O (BROADBENT et CLARK, 1965).

c) Végétation. — La végétation intervient dans deux directions opposées :

1° elle stimule la dénitrification en mettant à la disposition de la microflore dénitrifiante des substances donatrices d'électrons au niveau de la rhizosphère ou par l'intermédiaire de ses résidus aériens (litières) ou souterrains (racines) ;

2° elle la ralentit en utilisant pour ses besoins une partie des nitrates du sol, concurrençant ainsi la microflore dénitrifiante.

On admet actuellement que, dans son ensemble, l'effet de la végétation sur la dénitrification est très nettement stimulant.

REMARQUE I. — Certaines recherches écologiques portant sur le processus global de dénitrification dans le sol ont été fondées simplement sur l'étude de la disparition du nitrate incorporé au sol avant la mise en incubation des échantillons. Il s'agit là d'une méthode qui a pu, parfois, fournir une évaluation grossière de l'intensité de la dénitrification ; mais les résultats obtenus dans ces conditions sont entachés d'une grave erreur, notamment lorsque les processus d'immobilisation de l'azote nitrique sont importants. Il est donc nécessaire de recourir soit à la méthode manométrique, soit à la méthode isotopique (^{15}N). La méthode manométrique, qui est fondée sur l'évaluation du volume d'azote gazeux dégagé (N_2 et N_2O), est applicable dans la majorité des sols ; seuls doivent être exclus ceux qui, dans les conditions expérimentales, pourraient dégager des gaz autres que l'azote gazeux (N_2 et N_2O) ou le gaz carbonique (retenu par la potasse) : méthane par exemple. On en trouvera de bons exemples d'application dans les publications de GREENWOOD (1962) ou WOLDENDORP (1963). La méthode isotopique, qui est de loin la plus sûre, a été utilisée par de nombreux chercheurs (par exemple, WIJLER et DELWICHE, 1954). Signalons enfin que la chromatographie en phase gazeuse permet de déterminer avec précision la composition des différents gaz produits au cours de la dénitrification (BREMNER et KEENEY, 1966).

REMARQUE II. — Au laboratoire, et à partir de cultures pures (par exemple de *Bacillus licheniformis*), il est possible d'observer la formation d'ammoniac à partir de nitrate. On serait donc tenté de croire que, dans le sol, l'ammoniac qui s'accumule au cours de la dénitrification provient de la réduction des nitrates. En fait, il n'en est rien.

Cet ammoniac provient essentiellement de la désamination de la matière organique du sol (WOLDENDORP, 1965). En effet, l'anaérobiose, qui est une des conditions *sine qua non* de la dénitrification biologique, ne nuit nullement à l'ammonification, dont on connaît l'indifférence à la tension d'oxygène dans le milieu.

IV. — IMPORTANCE EFFECTIVE DE LA DÉNITRIFICATION DANS LE SOL

On peut avec BROADBENT et CLARK (1965) distinguer deux catégories de pertes d'azote par dénitrification :

a) **Les pertes normales**, qui sont des pertes lentes et progressives dues à l'existence dans le sol, même bien drainé, de microhabitats favorables à la dénitrification. On peut penser que ces pertes représentent *grosso modo* 10 à 15 % de la production annuelle et de l'apport d'azote nitrique.

b) **Les pertes accidentelles**, rapides et importantes, qui apparaissent lorsque l'ensemble du sol est placé dans des conditions écologiques concourant simultanément à la stimulation maximale du processus de dénitrification : présence de nitrates, présence de matière organique facilement métabolisable, humidité élevée (provenant soit de pluies importantes, soit de submersion), température élevée. Il semble qu'en région tempérée, ces conditions particulières se rencontrent rarement, sauf dans les prairies où les pertes par dénitrification peuvent atteindre et dépasser 50 % de l'azote apporté (WOLDENDORP, 1963). Dans les régions tropicales, il est probable que les pertes d'azote par dénitrification sont parfois considérables.

Pour réduire les pertes par dénitrification, il est classique de conseiller :

- 1° l'apport d'engrais sous forme ammoniacale et non nitrique ;
- 2° le contrôle de la nitrification par adjonction d'inhibiteurs (cf. p. 209) ;
- 3° le fractionnement des apports de matière organique fraîche qui, on l'a vu, stimulent la microflore dénitrifiante.

La première précaution n'est malheureusement pas toujours efficace : les pertes par dénitrification apparaissent en effet souvent indépendantes de la forme de l'azote utilisé, ce qui laisse supposer l'existence de processus de dénitrification plus complexes que ceux que l'on admet actuellement (CLARK, 1964). L'adjonction d'inhibiteurs est encore au stade expérimental et, si des résultats prometteurs ont été obtenus en zone tempérée, il n'en est pas de même sous les tropiques, où les produits proposés jusqu'à présent se sont avérés trop sensibles à la biodégradation pour être efficaces.

F. — GAINS ET PERTES D'AZOTE D'ORIGINE BIOLOGIQUE ET NON BIOLOGIQUE

A côté des processus de nature biologique (fixation d'azote libre et symbiotique, dénitrification), divers processus de nature chimique ou physique interviennent pour accroître ou diminuer le stock d'azote du sol. Il nous paraît indispensable de les présenter rapidement en les plaçant dans le cadre général du cycle de l'azote.

I. — GAINS

a) *Fixation de l'azote par les micro-organismes fixateurs libres* (cf. p. 158) *ou en symbiose* (p. 595).

b) *Fixation directe d'azote atmosphérique par les plantes.* — La fixation directe — c'est-à-dire sans l'intermédiaire d'un endophyte — par les plantes n'a jamais été démontrée de façon indiscutable. Parmi les partisans de cette thèse, on citera G. STEVENSON (1959), E. P. MÜLLER (1963) et des chercheurs soviétiques. A l'aide d'azote isotopique, G. STEVENSON aurait mis en évidence la fixation d'azote par les organes aériens de nombreuses plantes ; mais ces résultats sont critiquables, car les expériences n'ont pas été conduites aseptiquement et l'on peut craindre l'intervention de micro-organismes. E. P. MÜLLER, de son côté, a montré la possibilité de fixation d'azote par des plants entiers de Maïs et de Pois cultivés aseptiquement en solution nutritive additionnée de vitamine B₁₂. Les chercheurs soviétiques, de leur côté, auraient extrait de plantes supérieures des fractions renfermant des enzymes permettant la fixation d'azote (MOORE, 1966). Il sera, bien entendu, nécessaire d'effectuer de nouvelles recherches pour vérifier ces premiers résultats, élucider les mécanismes impliqués et étudier quantitativement le processus lorsque son existence aura été démontrée de façon irréfutable.

c) *Gains de nature non biologique.* — 1° *Apports par les eaux météoriques et les poussières atmosphériques.* — Il est bien connu que les eaux de pluie renferment de l'azote sous forme combinée, ammoniacale, nitrique, nitreuse et accessoirement organique : cet azote combiné proviendrait de l'une ou l'autre des sources suivantes :

1° sol ou océan ;

2° fixation de l'azote atmosphérique par l'intermédiaire de processus électriques ou par l'intervention des météorites ;

3° contaminations industrielles.

Les apports au sol sont, en général, inférieurs à 10 kg N/ha/an (cf. les revues de GREENLAND, 1959 ; HENZELL et NORRIS, 1962) ; mais ils peuvent, exceptionnellement, être plus élevés, notamment dans les *régions tropicales* et dans les *zones industrielles* où les apports peuvent atteindre 50 kg N/ha/an.

2° Fixation photochimique de l'azote. — L'école indienne (DHAR, 1953) estime que la fixation photochimique d'azote peut être à l'origine de gains substantiels. Il est encore difficile de se faire une idée définitive de la validité de cette théorie, car elle a suscité peu de recherches susceptibles de l'infirmier ou de la confirmer. Signalons seulement que les quelques travaux consacrés à ce processus hypothétique, en dehors de l'Inde, semblent plutôt défavorables (cf. p. 452).

3° Adsorption d'azote combiné par le sol. — On sait que le sol peut adsorber — notamment par l'intermédiaire de ses colloïdes organiques — de petites quantités d'ammoniac à partir de l'atmosphère. Si l'on estime, en général, négligeable la contribution de ce mécanisme à l'approvisionnement du sol en azote, INGHAM (1950) considère au contraire que cette adsorption jouerait un rôle essentiel ; il s'agit là d'une affirmation qui devra être soumise à un contrôle expérimental sévère, fondé sur l'utilisation de l'azote ^{15}N .

4° Apports par les engrais, semences et eaux d'irrigation. — Ces apports sont très variables ; ils peuvent être considérables dans le cadre d'une agriculture intensive.

II. — PERTES

a) Pertes par dénitrification biologique (cf. p. 219).

b) Volatilisation d'ammoniac gazeux. — Les pertes par volatilisation d'ammoniac gazeux se produisent surtout à partir d'engrais apportés sous forme d'urée, d'ammoniac anhydre, de sels ammoniacaux, mais peuvent aussi apparaître lors de l'incorporation au sol de résidus végétaux (MYSKOW et MORRISON, 1964). Ces pertes sont particulièrement élevées dans les conditions suivantes :

1° *pH supérieur à 8,0 (sol calcaire) ;*

2° *température élevée et dessiccation ;*

3° *application d'engrais en surface ;*

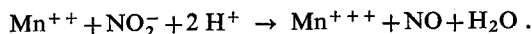
4° *faible capacité d'échange.*

La proportion d'azote perdu par volatilisation d'ammoniac est parfois considérable. Ainsi, l'application d'urée à la dose de 112 kg/ha à la surface du sol entraîne des pertes de l'ordre de 20 % dans des sols à capacité d'échange de 10 meq/100 g ; elle atteint 50 % dans des sols dont la capacité d'échange est inférieure à 5 meq/100 g (GASSER, 1964).

c) **Réactions diverses impliquant l'intervention des nitrites** (ALLISON, 1965 ; REUSS et SMITH, 1965). — 1° **Décomposition chimique des nitrites en milieu acide.** — Quand les nitrites se forment dans le sol (ou quand on les ajoute), ils sont stables si le pH approche ou dépasse 7,0. Au-dessous du pH 5,0, ils peuvent se décomposer suivant la réaction :

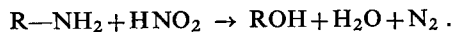


L'oxyde nitrique (NO) ainsi formé est relativement stable et peut se volatiliser ; mais il peut aussi être adsorbé dans le sol et ultérieurement oxydé en nitrate ; il peut également réagir avec l'oxygène de l'air pour donner le dioxyde (NO₂). D'après WULLSTEIN et GILMOUR (1964), l'instabilité des nitrites résulterait de leur réduction par certains métaux (Mn⁺⁺ ou Cu⁺⁺) :



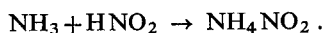
En fait, comme les nitrites apparaissent de préférence en milieu neutre ou basique (puisque le processus biologique qui est à leur origine est neutrophile ou basiphile) et que la décomposition chimique nécessite un pH acide, on peut penser que les pertes dues à ce mécanisme sont limitées. Cette conclusion a été vérifiée expérimentalement par MEEK et MACKENZIE (1965) qui ont démontré que les pertes d'azote en sol alcalin ne pouvaient être attribuées à l'instabilité des nitrites.

2° **Réaction de VAN SLYKE.** — A basse température (20 °C), l'acide nitreux réagit rapidement avec les acides α -aminés en libérant de l'azote moléculaire suivant la réaction :

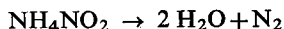


Cette libération d'azote moléculaire peut aussi apparaître avec d'autres composés : ammoniac, urée, méthylamine, purines, pyrimidines. Mais il s'agit là de réactions plus lentes et différant fondamentalement de la réaction de VAN SLYKE proprement dite. Dans l'état actuel de nos connaissances, la plupart des auteurs admettent que la réaction de VAN SLYKE a une importance négligeable dans le sol.

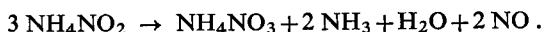
3° **Décomposition du nitrite d'ammonium.** — Lorsqu'à la suite d'applications massives d'engrais ammoniacaux, les nitrites s'accumulent dans le sol, ils peuvent réagir sur l'ammoniac pour donner naissance à du nitrite d'ammonium :



Le nitrite d'ammonium lui-même est relativement stable en milieu basique ; mais, si le pH est bas, il se décompose suivant la réaction :



ou parfois :



Ce processus de volatilisation de l'azote semble avoir une importance limitée dans le sol, sauf en cas d'applications très élevées d'engrais.

4° **Réaction des nitrites avec d'autres constituants du sol.** — Certains composés organiques réducteurs du sol, d'origine microbienne *pro parte*, pourraient intervenir dans la réduction des nitrites et de l'acide nitreux en azote gazeux (BROADBENT et CLARK, 1965).

d) **Lessivage.** — De tous les mécanismes qui entraînent une perte d'azote, le lessivage est certes le plus nocif. Les pertes par lessivage portent essentiellement sur l'azote nitrique dont les déplacements sont liés à ceux de l'eau. Elles portent aussi sur l'azote ammoniacal lorsque le complexe absorbant du sol est peu développé ; il en est de même après l'application de doses élevées d'engrais potassiques, car le potassium tend à saturer la capacité d'échange cationique des argiles d'où réduction de la rétention de l'ion NH_4^+ par ces colloïdes.

L'étude du lessivage de l'azote nitrique sort du cadre de cet ouvrage. Nous signalerons seulement que ces pertes sont très variables et dépendent d'un certain nombre de facteurs dont les précipitations, l'évapotranspiration, la texture du sol ; les pertes de l'ordre de 15 kg N/ha sont courantes ; elles peuvent même atteindre ou dépasser 50 à 100 kg en région tropicale (GREENLAND, 1959).

e) **Erosion.** — Les pertes par érosion sont fonction du climat, du type pédologique, de la couverture végétale, de la topographie. Elles sont également variables ; elles peuvent être faibles : de l'ordre de 1 kg N/ha, pour s'élever dans les cas les plus défavorables à 50 kg N/ha.

f) **Feu.** — La destruction de la végétation forestière, suivie d'incendie pour la mise en culture, fréquemment pratiquée en région tropicale, est à l'origine de pertes en azote qui peuvent représenter jusqu'à la moitié du stock d'azote total initial. Mais le feu a parfois un effet favorable.

g) **Pertes par l'intermédiaire des plantes.** — Deux mécanismes ont été invoqués pour expliquer la possibilité de volatilisation d'azote par l'intermédiaire des plantes vivantes :

1° exsudation de substances organiques plus ou moins volatiles : méthylamine, diméthylamine, acide hydrocyanique, nicotine ;

2° chez les plantes renfermant de fortes teneurs en nitrite, réaction des nitrites sur les acides aminés.

En pratique, ces pertes sont négligeables.

CHAPITRE IV

TRANSFORMATIONS MICROBIENNES DU SOUFRE

Le soufre est un élément indispensable à la nutrition des plantes ; il entre dans la composition de la méthionine et de la cystine, qui sont deux acides aminés très communs chez les végétaux, le premier renfermant 21 % et le deuxième 27 % de soufre. Deux facteurs de croissance, la thiamine et la biotine, renferment du soufre ; cet élément existe aussi dans le glutathion qui, on le sait, joue un rôle important dans les réactions d'oxydo-réduction. Le soufre n'entre pas dans la constitution de la chlorophylle ; mais les plantes carencées en soufre sont chlorotiques et ne se développent pas.

C'est essentiellement sous forme d'ion sulfate que les plantes absorbent le soufre du sol. Les plantes peuvent aussi utiliser les acides aminés soufrés ; mais cette source de soufre est certainement très discrète en raison de la biodégradation très rapide de ces formes. Les plantes peuvent également absorber le soufre élémentaire ou l'anhydride sulfureux par les feuilles (cf. les revues de SIMON-SYLVESTRE, 1960 et WHITEHEAD, 1964).

Il est nécessaire que le soufre organique du sol soit minéralisé à l'état de sulfate pour être utilisé par les plantes : cette minéralisation est le fait de la microflore tellurique et l'on comprend ainsi l'intérêt de l'étude de ce processus et du processus inverse, ou immobilisation, qui se développe simultanément dans le sol et qui tend à réduire la quantité de soufre assimilable par les plantes.

Parallèlement à ces deux types de transformation, le soufre subit dans le sol des modifications biologiques intéressant ses formes minérales : il peut être oxydé (sulfo-oxydation) ou réduit (sulfato-réduction).

La figure 44 schématise les différentes transformations de nature biologique qui intéressent le soufre : 1° *minéralisation* ou décomposition des grosses molécules organiques en composés minéraux simples ; 2° *immobilisation* ou assimilation et incorporation de ces composés dans les cellules microbiennes ; 3° *oxydation* ; 4° *réduction*. Ce schéma ne donne qu'un aperçu très simplifié des réactions complexes qui se manifestent dans le sol. Même si l'on considère seulement les transformations relatives aux formes minérales du soufre, il n'existe pas de chaînes simples de réactions ; le soufre lui-même et presque tous ses composés minéraux — quel que soit leur état d'oxydation — peuvent être à la fois oxydés et réduits dans le cadre d'un réseau très complexe de

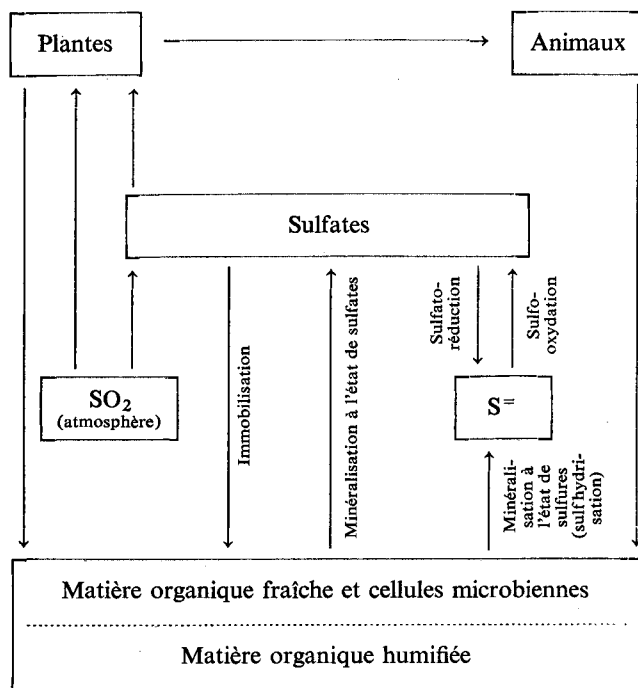


FIG. 44. — Transformations biologiques du soufre.

réactions, dont il serait effectivement très difficile de donner une image exacte (STARKEY, 1966).

Les cycles du soufre et de l'azote présentent des analogies frappantes :

1° Les deux éléments — azote et soufre — existent dans le sol essentiellement sous forme organique et ne peuvent être utilisés par les plantes qu'après avoir été préalablement minéralisés, à la suite de processus généralement de nature biologique.

2° La sulfo-oxydation est un processus voisin de la nitrification sur le plan de la biochimie et de l'écologie.

3° La sulfhydratation — ou minéralisation du soufre organique jusqu'au stade sulfure — se rapproche beaucoup de l'ammonification.

4° La réduction du soufre rappelle la réduction des nitrates par son écologie et aussi par la physiologie des micro-organismes impliqués dans ce processus.

Cependant, deux différences importantes séparent les cycles de l'azote et du soufre. La première concerne la source primaire de ces éléments : pour le soufre, la source primaire majeure est constituée par les roches mères, alors que pour l'azote la réserve planétaire est constituée par l'azote atmosphérique. La seconde est relative à la plus

grande complexité du cycle du soufre qui résulte de l'intrication extrême des réactions déjà évoquées plus haut.

A. — MINÉRALISATION DU SOUFRE ORGANIQUE

I. — FORMES DU SOUFRE ORGANIQUE DANS LE SOL

On sait que, dans beaucoup de sols, la majeure partie du soufre se trouve sous des formes organiques. D'après WHITEHEAD (1964) et FRENEY et STEVENSON (1966), ces formes peuvent être classées dans l'une des trois catégories suivantes :

a) *Acides aminés soufrés libres* (cystéine, cystine, méthionine, sulfoxyde de méthionine, taurine, acide cystéique), qui représentent seulement une faible partie du soufre organique total.

b) *Sulfates organiques* (par exemple : sulfate de choline) *et esters sulfuriques* d'hydrates de carbone et de lipides.

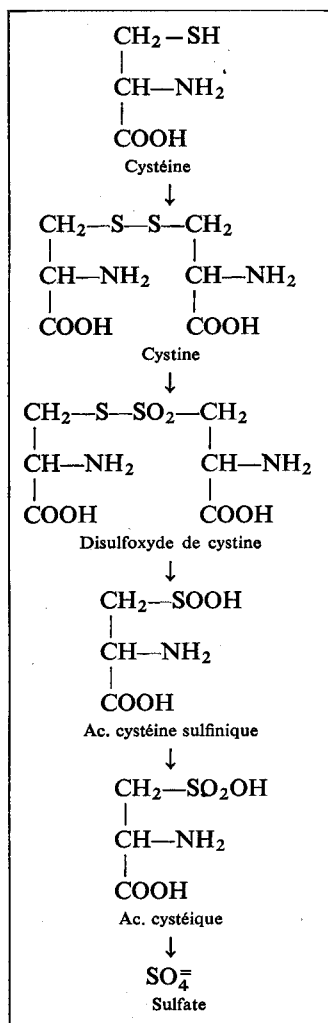
c) *Soufre organique lié aux fractions humiques et minérales*, qui peut constituer plus de la moitié du soufre total. Dans cette catégorie rentrent, en particulier, les acides aminés liés au carbone organique du sol. Comme pour l'azote organique (cf. p. 195), la condensation du soufre avec la fraction humique induit une stabilisation d'où un ralentissement de la minéralisation.

II. — MICRO-ORGANISMES RESPONSABLES

De très nombreux micro-organismes hétérotrophes aérobies et anaérobies interviennent dans la dégradation du soufre organique : Bactéries appartenant, par exemple, aux genres *Proteus*, *Serratia*, *Pseudomonas*, *Clostridium*, Champignons appartenant, par exemple, aux genres *Aspergillus*, *Microsporum* (SIMON-SYLVESTRE, 1960).

III. — ÉTAPES ET PRODUITS ULTIMES DE LA MINÉRALISATION DU SOUFRE ORGANIQUE

Les étapes de la dégradation des différentes formes du soufre organique dans le sol sont très complexes et encore mal connues, à l'exception de celles qui concernent quelques substances, dont la cystéine et la méthionine. Nous donnons ci-contre, à titre indicatif, un des schémas possibles des étapes de la dégradation de la cystéine dans le sol (fig. 45).



Les produits ultimes de la minéralisation du soufre organique sont soit des sulfates, soit des sulfures, soit des composés soufrés volatils tels que le méthylmercaptan (FREDERICK et coll., 1957). La nature des produits finals dépend non seulement de la composition des produits initiaux, mais aussi des conditions écologiques de la dégradation.

Lorsque la minéralisation du soufre organique donne naissance à des sulfures, on dit qu'il y a *sulphydrisation*. Ce type de minéralisation du soufre peut se manifester soit en aérobose, soit en anaérobie. Dans ce dernier cas, on peut la confondre avec la sulfato-réduction, puisque ce processus anaérobie donne aussi naissance à de l'hydrogène sulfuré ; mais la sulphydrisation anaérobie se distingue de la sulfato-réduction par la nature des réactions biochimiques impliquées et par le fait que les micro-organismes impliqués ne sont pas des *Desulfovibrio*.

FIG. 45. — Étapes possibles de la dégradation de la cystéine dans le sol (FRENEY et STEVENSON, 1966).

IV. — FACTEURS ÉCOLOGIQUES MAJEURS RÉGISSANT LA MINÉRALISATION DU SOUFRE ORGANIQUE

1° Humidité

C'est au voisinage de la capacité au champ que la production de sulfate à partir de soufre organique est la plus élevée (WILLIAMS, 1967).

Dans les sols submergés, lorsque les conditions sont favorables à l'apparition de processus d'anaérobiose stricte (cf. p. 407), le soufre organique donne naissance non seulement à des sulfures, mais aussi à des mercaptans, substances toxiques pour la végétation et notamment le Riz (TAKAI et ASAMI, 1962).

Lors de la dessiccation du sol, on observe une augmentation du taux des sulfates qui proviendraient des sulfates organiques (BARROW, 1961). Il s'agit là d'un processus de nature non biologique qui, dans les sols des régions arides, pourrait avoir une importance non négligeable.

2° Température

La minéralisation du soufre à l'état de sulfate est discrète au-dessous de 10 °C ; elle augmente progressivement avec la température jusqu'à 35 °C (WILLIAMS, 1967).

La production de mercaptan, qui se manifeste en anaérobiose, est beaucoup plus importante à température élevée (37 °C) qu'à 30 °C (TAKAI et ASAMI, 1962).

3° Rapport C/S

Dans le sol, la minéralisation nette du soufre de la matière organique qu'on y incorpore dépend de son C/S. Ce rapport, qui marque la limite au-dessous de laquelle il y a accumulation dans le sol de soufre minéral, varie lui-même entre 100 et 300 suivant la nature de la substance carbonée considérée. Comparant la minéralisation nette du soufre à partir de mélanges de saccharose, glycine et l-cystéine à C/S variant de 100 à 400, BARROW (1960) a établi que le C/S critique est compris entre 100 et 150. Pour le fumier et la paille compostée, ce rapport est de l'ordre de 112 (MASSOUMI et CORNFIELD, 1965). Pour la cellulose, le rapport C/S critique est de 300 ; mais, pour le glucose, il atteint la valeur exceptionnelle de 600 à 900 car la glycolyse exige beaucoup moins de soufre que la cellulolyse. La différence entre ces rapports critiques C/S proviendrait du fait que la cellulolyse nécessite l'intervention d'enzymes extracellulaires, donc l'excrétion de quantités relativement importantes de protéines dans le milieu

(B. A. STEWART et coll., 1966). Rappelons que le rapport critique concernant l'azote (C/N) est beaucoup plus faible (cf. p. 215).

4° Adjonction de carbonate de calcium

L'adjonction au sol de carbonate de calcium accroît, au cours de l'incubation, la teneur en sulfate soluble. Cet accroissement semble résulter, pour partie, de l'exaltation des processus microbiens de minéralisation du soufre par rapport aux processus d'immobilisation, comme c'est le cas pour la minéralisation de l'azote. Mais il pourrait être dû aussi : 1° à une libération du sulfate par hydrolyse alcaline de la matière organique ; 2° à la désorption du sulfate aux pH élevés ; 3° à l'apport de sulfate avec le carbonate de calcium impur (FRENEY et STEVENSON, 1966).

5° Effet de la végétation

Les plantes exercent un effet favorable sur la minéralisation du soufre organique, qui peut s'expliquer par la prolifération des micro-organismes au niveau de la rhizosphère (FRENEY et SPENCER, 1960) ou l'excrétion d'enzymes catalysant la décomposition de la matière organique.

Mais certaines formations végétales pérennes peuvent, au contraire, inhiber la minéralisation du soufre organique en réduisant l'activité des micro-organismes minéralisateurs par l'intermédiaire de toxines. Inversement, la mise en culture de sols antérieurement couverts d'une végétation spontanée pérenne, aboutit à la libération de sulfate par activation de la minéralisation.

B. — IMMOBILISATION DU SOUFRE MINÉRAL

Comme pour l'azote, les plantes et les micro-organismes jouent un rôle essentiel dans la conversion des formes minérales en formes organiques.

1° La végétation transforme en soufre organique le soufre minéral (sulfate) qu'elle absorbe ; le soufre retourne au sol sous forme organique avec les débris végétaux.

2° De leur côté, les micro-organismes utilisent les sulfates pour leurs synthèses cellulaires et les immobilisent ainsi.

a) Facteurs écologiques majeurs régissant l'immobilisation du soufre organique. — Ces facteurs sont les mêmes que ceux qui ont déjà été évoqués à

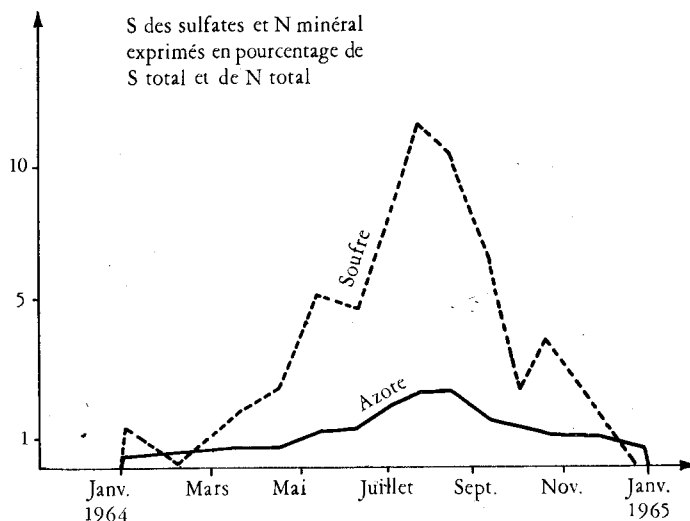


FIG. 46. — Variations saisonnières des teneurs du sol en sulfate et en azote minéral, exprimées en pourcentage du soufre total et de l'azote total, dans un sol sur limon des plateaux de Versailles, maintenu en jachère nue (d'après SIMON-SYLVESTRE, 1965).

propos de la minéralisation du soufre organique ; mais, bien entendu, ils agissent en sens inverse. Ainsi, l'immobilisation nette est favorisée par un rapport C/S élevé (supérieur à 200), un pH bas, une humidité élevée et aussi, semble-t-il, par une température faible.

b) Variations saisonnières de l'équilibre immobilisation-minéralisation du soufre dans le sol. Conséquences sur le plan agronomique. — Les sulfates présentent dans le sol des variations saisonnières parfois très importantes. Tel est le cas d'un sol sur limon des plateaux de Versailles, maintenu en jachère nue, étudié par SIMON-SYLVESTRE (1965). Cet auteur observe une montée très rapide de la teneur du sol en sulfate au printemps avec un maximum en été (86 kg/ha de soufre sous forme de sulfate), puis une chute soudaine au début de l'automne ; en hiver, la teneur du sol en sulfate est très faible (quelques kilogrammes par ha). Comme dans le cas de l'azote, on peut expliquer ces variations par un déplacement saisonnier de l'équilibre immobilisation-minéralisation. Au printemps, les processus de minéralisation du soufre à l'état de sulfate l'emportent sur les processus d'immobilisation ; par contre, en automne, la minéralisation est moins intense que l'immobilisation. En ce qui concerne le pourcentage de l'élément minéralisé par rapport à l'élément total dans le sol, il est au maximum de 2,7 % pour l'azote, mais peut atteindre 12,3 % pour le soufre (fig. 46).

Sur le plan pratique, la forte immobilisation des sulfates qui se manifeste en automne et en hiver, empêche les pertes par lessivage. La forte minéralisation de

printemps permet une alimentation satisfaisante en soufre de la plupart des plantes cultivées, de sorte que l'apport d'engrais soufrés reste souvent sans action, contrairement aux engrais azotés ; toutefois les engrais soufrés s'avèrent nécessaires sur les cultures — telles que le Colza d'hiver — qui exigent, tôt au début du printemps, des quantités importantes de sulfates.

Il faut se garder d'extrapoler à d'autres types pédologiques les résultats obtenus dans le cas du limon des plateaux de Versailles que nous venons d'évoquer ; en effet le pourcentage de minéralisation du soufre organique est parfois inférieur à celui de l'azote organique (WILLIAMS, 1967).

C. — OXYDATION DES COMPOSÉS MINÉRAUX DU SOUFRE OU SULFO-OXYDATION

L'oxydation des composés minéraux du soufre peut être de nature chimique ou biologique. S'il est souvent difficile de distinguer la nature des réactions d'oxydation du soufre dans le sol, on admet très généralement que l'oxydation microbienne est de loin la plus efficace lorsque les conditions écologiques sont favorables (ALEXANDER, 1961). Les réactions qui peuvent apparaître sont très nombreuses car le soufre présente des degrés d'oxydation variés : sulfate (+6), sulfite (+4), thiosulfate (+6 et -2), soufre élémentaire (0), disulfure (-1), sulfure (-2).

I. — MICRO-ORGANISMES RESPONSABLES (tableau XXXIX)

L'oxydation biologique est le fait de quatre groupes de micro-organismes :

- 1° des Bactéries chimiolithotrophes du genre *Thiobacillus* ;
- 2° des micro-organismes chimio-organotrophes (hétérotrophes) variés ;
- 3° des Bactéries chimiolithotrophes appartenant à la famille des Beggiatoacées ;
- 4° des Bactéries photolithotrophes (photosynthétiques) : Chlorobactériacées et Thiorhodacées.

Dans le sol, ce sont les deux premiers groupes de micro-organismes qui jouent le rôle essentiel ; les deux derniers groupes, qui sont constitués de Bactéries aquatiques se développant en présence d'hydrogène sulfuré, interviennent seulement dans des conditions bien particulières, la présence d'hydrogène sulfuré dans le sol étant exceptionnelle (cf. p. 407).

TABLEAU XXXIX. — BACTÉRIES RESPONSABLES DE LA SULFO-OXYDATION

	FAMILLES OU GROUPES	PRINCIPAUX GENRES	EXIGENCES VIS-À-VIS DE L'OXYGÈNE	SOLS HABITÉS
Autotrophes photosynthétiques (photolithotrophes)	CHLOROBACTÉRIACÉES (Bactéries sulfureuses vertes)	<i>Chlorobium</i>	Anaérobies	Hydromorphes
	THIORHODACÉES (Bactéries sulfureuses pourpres)	<i>Chromatium</i> <i>Thiocystis</i> <i>Lamprocystis</i> <i>Thiospirillum</i>	Anaérobies	Hydromorphes
	BEGGIATOACÉES	<i>Beggiatoa</i> <i>Thioplasma</i> <i>Thiothrix</i> <i>Thiospirillopsis</i>	Aérobies	Hydromorphes
Autotrophes non photosynthétiques (chimioolithotrophes)	THIOBACTÉRIACÉES	<i>Thiobacillus</i>	Aérobies à l'exception de <i>Thiobacillus denitrificans</i> (anaérobie facultatif)	Exondés et parfois hydromorphes
Hétérotrophes	Genres divers dont <i>Pseudomonas</i> , <i>Micrococcus</i>		Aérobies et semi-anaérobies	Exondés et hydromorphes

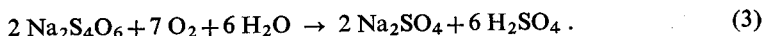
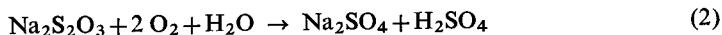
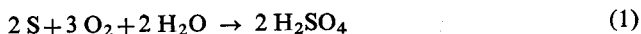
1° Les Thiobactériacées

Seules sont bien connues dans le sol, celles qui appartiennent au genre *Thiobacillus*. Ce sont de petits bâtonnets ($0,5 \times 1,3 \mu$) Gram négatifs, asporulés, généralement mobiles au moyen d'un flagelle polaire ; ils sont morphologiquement voisins des Pseudomonadacées ; contrairement aux Beggiatoacées, ils ne renferment pas de granules de soufre intracellulaires. Le genre *Thiobacillus* comprend neuf espèces, dont cinq ont fait l'objet d'études approfondies ; sur ces cinq espèces, quatre sont des germes autotrophes stricts (*T. thioparus*, *T. denitrificans*, *T. thiooxidans*, *T. ferrooxidans*) ; la cinquième est un germe autotrophe facultatif (*T. novellus*).

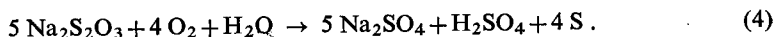
Trois espèces se rencontrent très souvent dans les sols ; ce sont les Bactéries neutrophiles : *T. thioparus*, *T. denitrificans*, *T. novellus*. Deux espèces sont beaucoup plus rares et sont localisées dans des stations exceptionnellement acides (pH 2,0 à 3,5) et en présence de quantités considérables de soufre ou de sulfures : *T. thiooxidans* et *T. ferrooxidans*.

T. thioparus, très largement répandu dans les sols, est relativement neutrophile : il ne supporte pas des pH inférieurs à 5,0 et se développe en aérobiose. Il oxyde les thiosulfates, les sulfures, le soufre élémentaire, les tétrathionates, les thiocyanates à l'état de sulfates.

A titre d'exemple, citons les réactions typiques suivantes :

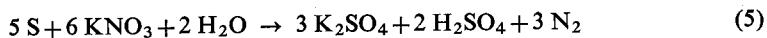


T. thioparus peut aussi produire du soufre élémentaire à partir des thiosulfates :

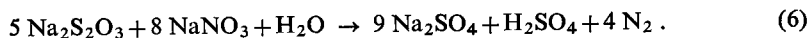


Si *T. thioparus* est essentiellement aérobie, il peut, semble-t-il, vivre aussi en anaérobiose, en présence de nitrate qu'il réduit à l'état de nitrite et non à l'état d'azote moléculaire comme c'est le cas pour *T. denitrificans*.

T. denitrificans se rapproche de *T. thioparus* par le fait qu'il est également neutrophile et qu'il oxyde aussi le soufre, les thiosulfates et les tétrathionates suivant les réactions (1), (2) et (3) ; mais il s'en distingue par le fait que c'est un anaérobie facultatif. Il s'avère, en effet, capable de réduire activement en anaérobiose les nitrates à l'état d'azote moléculaire. Il se comporte alors en dénitrificateur vrai : il utilise le nitrate comme accepteur final d'électrons pour oxyder le soufre suivant une réaction du type :



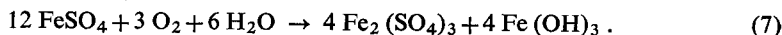
ou bien :



T. novellus, on l'a déjà signalé, est un chimiolithotrophe facultatif : il se développe aussi bien sur un milieu au thiosulfate que sur un milieu contenant de la peptone ; comme *T. thioparus*, il est neutrophile et, comme ce micro-organisme, il oxyde les thiosulfates ou le tétrathionate [réactions (2) et (3)] ; mais contrairement à ce micro-organisme, il n'oxyde pas le soufre élémentaire en sulfate.

T. thiooxidans est une Bactérie très acidophile. Son développement optimal correspond à des pH compris entre 2,0 et 3,0 ; il supporte des concentrations d'acide (1,0 M d'acide sulfurique) qui sont létales pour la plupart des autres micro-organismes. Il ne se développe pas au voisinage de la neutralité. *T. thiooxidans* oxyde rapidement le soufre élémentaire ainsi que les sulfures, les thiosulfates, les tétrathionates et les sulfites suivant des réactions du type de celles qui ont été indiquées ci-dessus pour *T. thioparus* : (1), (2) et (3).

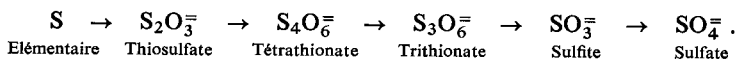
T. ferrooxidans se rapproche de *T. thioparus* par son acidophilie très poussée et par le fait qu'il oxyde le soufre élémentaire et les thiosulfates suivant les réactions du type (1) et (2). Son pH optimal est voisin de 3,0. Le caractère distinctif majeur de *T. ferrooxidans* réside dans son comportement de Bactérie ferrugineuse : il peut, en effet, se développer en utilisant l'énergie d'oxydation du fer ferreux, de même qu'il utilise l'énergie d'oxydation des formes réduites du soufre :



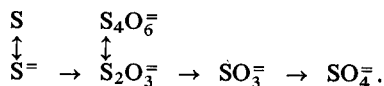
Lorsqu'il est en présence de minéraux renfermant à la fois du soufre et du fer réduits — par exemple la chalcopryrite (Cu Fe S_2) — *T. ferrooxidans* oxyde simultanément et indépendamment le fer et le soufre (DUNCAN et coll., 1967).

Tous les *Thiobacillus*, à l'exception de *T. novellus*, utilisent le gaz carbonique comme source de carbone, les sels ammoniacaux comme source d'azote. A ce propos, il est curieux de noter que *T. denitrificans*, qui peut se développer en anaérobiose en présence de nitrate (qui, on l'a vu, sert d'accepteur d'électrons dans le processus oxydatif), est incapable d'assimiler l'azote nitrique : il est nécessaire de lui fournir de l'azote ammoniacal.

On a proposé différents schémas métaboliques de l'oxydation du soufre par les *Thiobacillus*. Certains auteurs supposent un passage par le soufre élémentaire et les polythionates (essentiellement le tétrathionate) :



D'autres auteurs pensent que le principal intermédiaire serait le thiosulfate :



2° Micro-organismes hétérotrophes

De nombreux micro-organismes, Bactéries aérobies, Actinomycètes, Champignons filamenteux et Levures, sont capables d'oxyder le soufre. On peut distinguer deux catégories principales :

- ceux qui oxydent le soufre élémentaire et les thiosulfates en polythionates ;
- ceux qui oxydent les polythionates en sulfates.

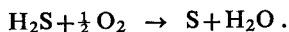
En outre, de nombreux Champignons peuvent donner des sulfates à partir de substrats organiques tels que la cystine, la méthionine et la thiourée. L'oxydation est alors accessoire et n'apporte que très peu d'énergie à ces micro-organismes.

En règle générale, l'oxydation par les micro-organismes hétérotrophes est moins rapide que l'oxydation par les *Thiobacillus*. Mais l'abondance de ces micro-organismes, comparée à la densité relativement faible des *Thiobacillus*, et leur adaptation à des milieux édaphiques variés incitent à penser qu'ils jouent un rôle au moins aussi important que les micro-organismes autotrophes.

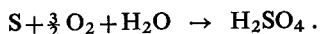
3° Les Beggiatoacées

Ces micro-organismes, parfois rattachés aux Cyanophycées (car ils présentent de profondes ressemblances avec le genre *Oscillatoria*), se rapprochent des *Thiobacillus* par leur double caractère aérobie et chimiolithotrophe ; mais ils en diffèrent par le fait qu'ils sont presque exclusivement confinés à des habitats aquatiques (eaux sulfureuses à température parfois élevée), des fonds boueux ou certains sols hydromorphes.

Les représentants du genre *Beggiatoa* — qui est le genre type de ce groupe — existent partout où l'hydrogène sulfuré est en contact avec l'atmosphère : sources sulfureuses, surface des sédiments boueux. Les Beggiatoacées tirent l'énergie qui leur est nécessaire de l'oxydation de l'hydrogène sulfuré ; le sulfure est d'abord oxydé sous forme de soufre élémentaire, qui s'accumule à l'intérieur des cellules en granules réfringents caractéristiques (qui n'existent pas chez les *Thiobacillus*) :



Lorsque les sulfures sont épuisés dans le milieu, ces micro-organismes oxydent le stock intracellulaire de soufre à l'état d'acide sulfurique :



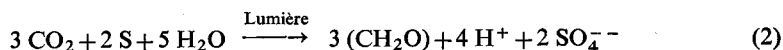
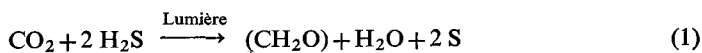
L'autotrophie des Beggiatoacées admise par WINOGRADSKY n'est pas reconnue par tous les auteurs (ALEXANDER, 1961).

4° Bactéries sulfureuses photosynthétiques : Chlorobactériacées et Thiorhodacées

(cf. la revue de KAISER, 1966)

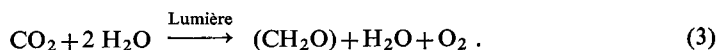
Ces Bactéries photosynthétiques ont des exigences écologiques très particulières puisqu'elles se développent seulement : 1° en l'absence d'oxygène (ce sont des anaérobies strictes) ; 2° en présence de lumière ; 3° en présence d'hydrogène sulfuré. En pratique, ces conditions se rencontrent essentiellement dans les eaux lacustres riches en matière organique, les eaux usées de laiteries ou de fabriques de cellulose, les vases, les litières végétales aquatiques ; elles existent aussi parfois dans certains types de sols hydro-morphes.

Les Bactéries sulfureuses photosynthétiques utilisent les sulfures comme donneurs d'électrons exogènes pour la synthèse de leur matériel cellulaire à partir de CO_2 . L'oxydation du soufre s'effectue en deux étapes :



(CH_2O) représentant un maillon de la molécule de glucide synthétisé.

On remarquera qu'il existe une analogie évidente entre la réaction (1) et la réaction photosynthétique globale des plantes vertes :



Dans cette dernière réaction, le rôle de donneur d'électrons (qui est dévolu à l'hydrogène sulfuré dans la photosynthèse bactérienne) est tenu par l'eau. Les deux processus photosynthétiques diffèrent essentiellement par le fait que les Bactéries photosynthétiques utilisent, comme donneurs d'électrons, des composés à pouvoir réducteur élevé (H_2S), alors que les plantes vertes utilisent l'eau dont le pouvoir réducteur est très faible. L'appareil photosynthétique des Bactéries s'avère donc moins efficace que l'appareil photosynthétique des végétaux, d'ailleurs plus complexe encore, qui, lui, est capable d'arracher des électrons à l'eau, ou plutôt aux ions OH^- qui proviennent de sa dissociation (MOYSE, 1967).

On a vu que les Bactéries sulfureuses photosynthétiques n'interviennent pas seulement dans le cycle du soufre mais aussi dans le cycle de l'azote puisqu'elles peuvent fixer l'azote moléculaire (p. 175).

Les Bactéries sulfureuses photosynthétiques appartiennent à deux groupes : celui des Chlorobactériacées ou Bactéries sulfureuses vertes et celui des Thiorhodacées ou Bactéries sulfureuses pourpres (tableau XXXIX).

a) **Chlorobactériacées.** — La plupart de ces Bactéries se présentent sous forme de petits bâtonnets ou cocci légèrement verdâtres ayant souvent la morphologie d'Algues minuscules. Presque toutes appartiennent au genre *Chlorobium*.

b) *Thiorhodacées*. — Ces Bactéries se présentent sous des formes très variées : formes levures, spirilles géants, gros cocci ; leur taille est supérieure à celle de la plupart des Bactéries hétérotrophes banales. Leurs cellules sont bourrées de granules réfringents de soufre qui proviennent de l'oxydation des sulfures du milieu où elles se développent ; ces granules de soufre sont oxydés ultérieurement lorsque les sulfures ont été épuisés.

Les Thiorhodacées sont souvent colorées en rouge par des caroténoïdes intracytoplasmiques de sorte qu'elles confèrent au milieu où elles prolifèrent une teinte rose ou rouge. Les principaux genres de Thiorhodacées sont les suivants : *Chromatium*, *Thiocystis*, *Lamprocystis*, *Thiospirillum*.

II. — FACTEURS ÉCOLOGIQUES RÉGISSANT LA SULFO-OXYDATION DANS LES SOLS EXONDÉS

Il sera seulement question ici des sols exondés où, contrairement aux sols hydromorphes, les Beggiatoacées, Chlorobactériacées et Thiorhodacées ne jouent pratiquement aucun rôle.

1° Humidité

L'humidité la plus favorable à la sulfo-oxydation correspond à une tension de l'ordre de 0,03 à 0,06 bars. Par contre, la saturation du sol en eau ralentit considérablement l'oxydation biologique du soufre parce que : 1° la réduction des échanges gazeux qui en découle inhibe la microflore aérobie autotrophe et hétérotrophe ; 2° la microflore sulfo-oxydante anaérobie (*Thiobacillus denitrificans*) ne peut, en général, prendre le relais de la microflore aérobie, car la teneur du sol en nitrates est insuffisante.

2° Température

La sulfo-oxydation dans le sol est très sensible à la température ; on ne dispose malheureusement pas de nombreuses données sur ce point ; on sait seulement qu'à 4 °C, la sulfo-oxydation est insignifiante et qu'à 23 °C elle est très active (FOX et coll., cités par ATTOE et OLSON, 1966).

3° pH

Dans le sol, la sulfo-oxydation est, en général, favorisée par la neutralité. Ainsi, le chaulage d'un sable limoneux, qui élève son pH de 5,2 à 6,4-7,5, accroît l'oxydation du soufre de 10 à 20 % par rapport au témoin non chaulé (LUDWICK, cité par ATTOE et OLSON, 1966).

III. — INTÉRÊT PRATIQUE DE LA SULFO-OXYDATION

1° Conséquences agronomiques de la sulfo-oxydation

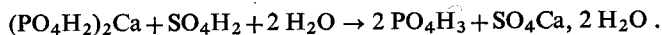
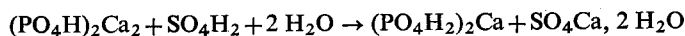
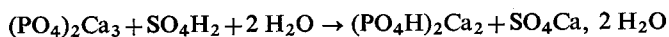
En général, l'oxydation du soufre dans le sol n'en modifie pas sensiblement le pH, car les sulfates formés sont ou assimilés par les plantes ou lessivés. Il n'en est pas de même lorsque le sol reçoit des apports importants de soufre élémentaire ou lorsque celui-ci renferme de grandes quantités de sulfures et qu'il se trouve placé par drainage dans des conditions favorables à la sulfo-oxydation.

a) *Cas des sols recevant des apports importants de soufre élémentaire.*

— Ces apports, lorsqu'ils sont effectués volontairement, sont destinés essentiellement à améliorer indirectement la productivité des sols basiques par une baisse de pH. Nous en donnerons trois exemples classiques :

1° L'adjonction de soufre à des sols alcalins stimule l'activité des *Thiobacillus*, d'où production d'acide sulfurique, qui neutralise l'alcalinité de ces terres et améliore leur structure par floculation des colloïdes (SIMON-SYLVESTRE, 1960) ;

2° L'acide sulfurique résultant de la sulfo-oxydation solubilise les phosphates tricalciques en les transformant en phosphates dicalcique et monocalcique assimilables par les plantes (LIPMAN et coll., 1916) :



A la suite des travaux de LIPMAN, on a mis au point la préparation à la ferme de composts de sol, soufre et phosphate naturels, qui se sont avérés très efficaces pour la solubilisation de ces phosphates. Bien que réalisables sans difficulté, ces composts n'ont jamais été utilisés sur une grande échelle ; cependant leur étude a eu le mérite de stimuler jusqu'à ce jour les recherches sur la microbiologie du soufre et sur la biochimie des Bactéries du soufre.

3° L'acidification induite par la sulfo-oxydation a également été mise à profit pour solubiliser divers éléments dont Mn : par adjonction de soufre au sol, on a pu ainsi corriger une déficience en Mn, l'acidification favorisant la réduction du Mn tétravalent non assimilable en Mn divalent assimilable par les plantes (QUASTEL et coll., 1948).

Il est des sols, par contre, où l'apport de soufre élémentaire s'est avéré désastreux. Tel est le cas de certains sols de vignoble du Sud-Ouest de la France où des traitements

anticryptogamiques répétés avec du soufre ont amené une prolifération des *Thiobacillus* (plus de 10^6 /g de sol) et une acidification entraînant un dépérissement progressif de la Vigne (POCHON et CHALVIGNAC, 1964).

b) Drainage de sols riches en sulfures. — Les sols riches en matière organique qui sont soumis à une hydromorphie très réductrice (cf. p. 398), et en particulier les sols submergés par l'eau salée ou saumâtre, renferment de grandes quantités de soufre, sans qu'il y ait accumulation concomitante de quantités équivalentes de bases. Lorsque de tels sols sont drainés, les sulfures sont oxydés et leur acidité s'élève rapidement du fait de processus chimiques et de processus biologiques où sont impliqués des *Thiobacillus* et d'autres micro-organismes. D'après ILIALETDINOV et KANATCHINOVA (1964), qui ont étudié ces phénomènes dans des sols à hydromorphie temporaire d'URSS, l'oxydation d'origine biologique (par *Thiobacillus thioparus*) représenterait 40 à 60 % de l'oxydation totale.

Si l'on ne prend certaines précautions (chaulage notamment), lors de l'assèchement de sols submergés tels que sols de polder ou sols de mangrove ⁽¹⁾ (HART, 1959), le pH tombe rapidement après le drainage à des valeurs très basses (3,2 à 2,2), très préjudiciables à la végétation. Cette acidification est due essentiellement à l'oxydation du soufre de fer (FeS) et aussi à l'oxydation des polysulfures : disulfure (pyrite : FeS₂), trisulfure et tétrasulfure de fer. L'oxydation du soufre est rapide, mais l'oxydation des polysulfures est plus lente (HARMSSEN et coll., 1954 ; HART, 1963). Vraisemblablement, l'oxydation du disulfure est de nature chimique en ce qui concerne sa première phase (oxydation de disulfure en soufre), mais de nature biologique en ce qui concerne la phase ultime d'oxydation (oxydation du soufre en sulfate) (STARKEY, 1966).

2° Corrosion aérobie de matériaux divers : ciment, pierres, métaux

Alors que la corrosion anaérobie (cf. *infra*, p. 255) intéresse seulement les métaux, la corrosion aérobie intéresse, en outre, des matériaux tels que le ciment ou les pierres de construction. Sur le plan électrochimique, le processus de corrosion aérobie est d'ailleurs beaucoup plus simple que le processus de corrosion anaérobie : il s'agit simplement d'une dissolution du substrat par l'acide sulfurique. Sur le plan bactériologique, par contre, la situation est beaucoup plus complexe. La corrosion aérobie fait, en effet, intervenir des successions d'espèces microbiennes variées (BOOTH, 1964).

a) Corrosion du ciment. — Cette corrosion est simultanément le fait de processus chimiques et microbiologiques. Dans les premiers stades de la corrosion, l'hydro-

⁽¹⁾ La mangrove est une formation végétale particulière des rivages et estuaires maritimes à pente douce des régions tropicales et subtropicales. Elle est formée d'arbres et arbustes à feuilles persistantes enracinés dans la zone alternativement exondée et inondée à chaque marée ; les espèces de la mangrove appartiennent essentiellement aux familles des *Rhizophoracées* (*Rhizophora*) et *Verbenacées* (*Avicennia*). Les sols de mangrove sont toujours très riches en sulfures et polysulfures.

gène sulfuré donne naissance à des thiosulfates et le pH descend de 12,5 à 10,0 ; c'est alors qu'interviennent des associations complexes de micro-organismes qui oxydent les thiosulfates à l'état de polythionates et de sulfates. Lorsque le pH tombe au-dessous de 9,0, *Thiobacillus thioparus* oxyde les composés réduits du soufre en polythionates, sulfates et soufre élémentaire et abaisse le pH à 5,0. A ce stade, *T. thiooxidans*, dont certaines souches ont, à juste titre, reçu le nom de *T. concretivorus*, prend la relève et oxyde le soufre élémentaire en acide sulfurique, élevant considérablement la concentration locale de cet acide corrosif (5 %) : le ciment se désintègre littéralement (BOOTH, 1964).

b) Corrosion des pierres de construction. — Les altérations des pierres des monuments ont depuis longtemps attiré l'attention des architectes chargés de leur conservation ; elles sont dues non seulement à des processus de nature chimique ou physique, mais aussi, dans certains cas (lésions basses), à des processus biologiques encore mal élucidés faisant intervenir successivement les *Desulfovibrio* et les *Thiobacillus*. Les premiers micro-organismes réduiraient en sulfures les sulfates du sol au pied des murs humides ; ces sulfures monteraient ensuite avec l'eau par capillarité et seraient oxydés par les *Thiobacillus* au sein de la pierre ; c'est l'acide sulfurique formé qui déterminerait les lésions (POCHON et coll., 1960). Cette théorie n'est pas admise par KAUFFMANN (1960), pour qui les Bactéries nitrifiantes seraient responsables de cette corrosion.

c) Corrosion des métaux. — Elle est due à des processus très voisins qui impliquent l'intervention de *Thiobacillus* associés fréquemment avec des Bactéries du fer (STARKEY, 1956 ; BOOTH, 1964). Ce type de corrosion est fréquent dans les mines de charbon où, lors de l'exploitation, les sulfures et polysulfures de fer contenus dans les filons sont oxydés en sulfate ferreux et acide sulfurique (oxydation chimique et biologique) ; l'eau de ruissellement est très acide (pH : 2,0 à 3,5), car elle renferme de fortes quantités de ces deux composés.

3° La sulfo-oxydation en géomicrobiologie

La sulfo-oxydation intéresse plus particulièrement le géologue dans les cas suivants :

a) Extraction de métaux de minerais à faible teneur. — Les propriétés corrosives des Bactéries sulfo-oxydantes sont mises à profit pour le traitement de divers minerais à faible teneur. C'est en particulier le cas des minerais d'uranium pour lesquels l'extraction a été considérablement améliorée par l'incorporation de soufre à la dose de 2 % et par perfusion d'une solution nutritive pour *Thiobacillus thiooxidans*. En maintenant à une humidité convenable des crassiers résultant de l'exploitation de minéraux sulfureux, on est parvenu à récupérer dans les eaux de drainage, des quantités importantes de Cu, Zn, Mo, Cr, Ti, sous forme de sulfates, résultant de la solubilisation de ces métaux par l'acide sulfurique produit par *T. thiooxidans* et *T. ferrooxidans* (KUZNETSOV et coll., 1962).

b) *Genèse biologique des gisements lacustres de soufre.* — Il est certains gisements de soufre dont la genèse serait biologique : tel est le cas des gisements lacustres de Cyrénaïque et d'URSS (KUZNETSOV et coll., 1962). Si l'on explique bien l'origine de l'accumulation du soufre qui proviendrait de l'oxydation des sulfures (apportés aux lacs par des sources) par les *Thiobacillus* et les Bactéries photosynthétiques du soufre, on comprend encore mal comment le soufre élémentaire — qui est très sensible à l'oxydation microbienne — a pu se conserver à cet état d'oxydation dans certaines formations géologiques.

D. — LA RÉDUCTION DES COMPOSÉS MINÉRAUX DU SOUFRE

En milieu anaérobie et propice à la vie microbienne, les sulfates sont réduits à l'état de sulfures. Ce processus, qui a reçu le nom de *réduction dissimilative des sulfates* ou *sulfato-réduction*, apparaît seulement dans les sols à hydromorphie très réductrice (cf. p. 398) et dans des milieux particuliers : boues usées, eaux-vannes, sédiments marins, dépôts de pétrole, eaux de gazomètres (SENEZ et coll., 1956).

La réduction du soufre a toujours lieu jusqu'au stade sulfure ; mais du soufre peut apparaître dans le milieu considéré à la suite d'une oxydation secondaire des sulfures formés, cette oxydation pouvant être d'origine chimique ou microbiologique.

I. — MICRO-ORGANISMES RESPONSABLES

La réduction dissimilative des sulfates est le fait d'un nombre limité d'espèces microbiennes *anaérobies strictes* très répandues dans la nature et que l'on désigne sous le nom de Bactéries sulfato-réductrices. Les composés moins oxydés du soufre sont réduits à l'état de sulfures, non seulement par les Bactéries sulfato-réductrices, mais aussi par de nombreux autres micro-organismes.

1° Bactéries responsables de la réduction des sulfates ou Bactéries sulfato-réductrices

Ces Bactéries, dont l'ensemble a été longtemps désigné sous le nom de *Sporovibrio*, appartiennent en fait à deux genres :

— le genre *Desulfovibrio*, composé d'espèces non sporulées à morphologie de vibron, munies d'une flagelle polaire unique (fig. 47) ou lophotriches, mésophiles ;

— le genre *Desulfotomaculum*, composé d'espèces sporulées en forme de bâtonnets droits ou plus ou moins courbes, caractérisées par une ciliation pérित्रique (fig. 48) et leur propriété de se développer facultativement ou obligatoirement à 55 °C (thermotolérance ou thermophilie stricte).

Le genre *Desulfovibrio* comprend cinq espèces : *D. desulfuricans*, *D. vulgaris*, *D. salexigens*, *D. gigas* (fig. 49), *D. africanus*, qui sont toutes mésophiles, mais diffèrent par la morphologie, la tolérance au sel et la nature des substrats métabolisés.

Le genre *Desulfotomaculum* comprend trois espèces, dont la première est thermophile : *Dm. nigrificans* (= *Clostridium nigrificans*), *Dm. orientis* (= *Desulfovibrio orientis*), *Dm. ruminis* (POSTGATE, 1965 ; STARKEY, 1966).

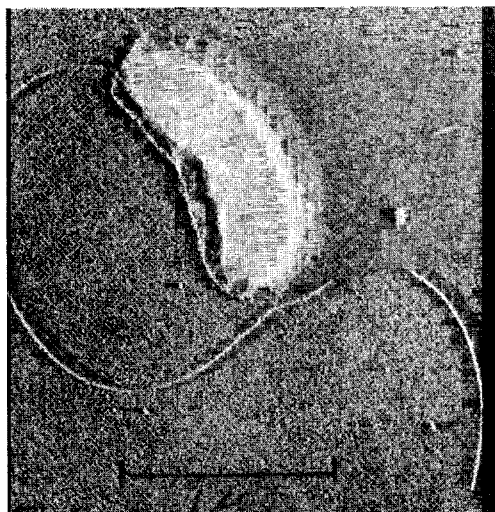


FIG. 47. — *Desulfovibrio desulfuricans*
(L. L. CAMPBELL, in SENEZ, 1962).



FIG. 48. — *Desulfotomaculum* (syn. : *Clostridium*) *nigrificans* (L. L. CAMPBELL, in SENEZ, 1962).

Toutes ces Bactéries sont neutrophiles puisqu'elles se développent à des pH compris entre 5,5 et 9,0 ; elles sont relativement tolérantes au sel et souvent très tolérantes à l'hydrogène sulfuré qu'elles produisent. Cette tolérance pour l' H_2S peut atteindre 2,5 g/l. En dehors de son effet toxique sur les autres organismes, l'hydrogène sulfuré induit, dans les biotopes où il s'accumule, une baisse très prononcée du Eh (SENEZ, 1962).

A haute dose, les sulfures ralentissent cependant la croissance des sulfato-réducteurs qui, au lieu d'être logarithmique, est de type linéaire. En effet, en s'accumulant dans le milieu, ils agissent en tant

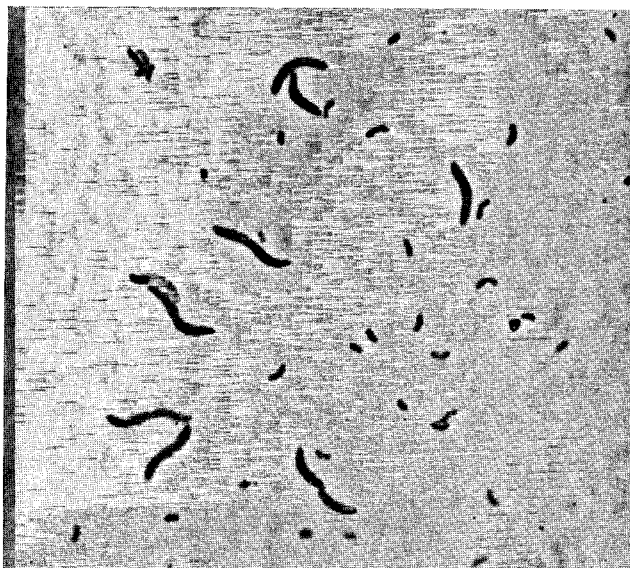
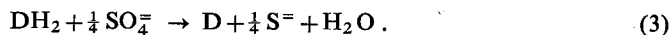
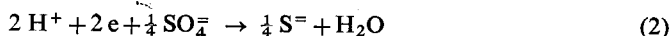


FIG. 49. — Culture mixte de *Desulfovibrio gigas* (grandes cellules) et de *D. desulfuricans* (petites cellules) ($\times 1000$) (Microphotographie due à l'obligeance du D^r J. LE GALL).

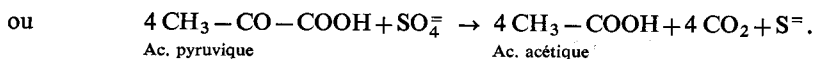
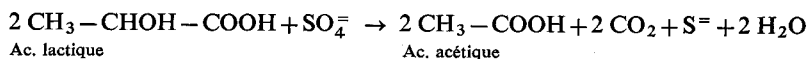
qu'inhibiteurs de croissance et ils réduisent la teneur du milieu en fer assimilable par précipitation de cet élément (SENEZ, 1951).

Les Bactéries sulfato-réductrices sont des anaérobies obligatoires qui réduisent les sulfates en sulfures en utilisant comme source d'énergie et de pouvoir réducteur des donateurs d'électrons organiques ou l'hydrogène.

a) *Utilisation des donateurs d'électrons organiques.* — Les réactions de sulfato-réduction peuvent être schématisées comme suit :



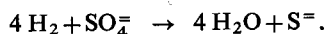
A titre d'exemple, nous donnons ci-dessous les réactions apparaissant dans le cas où l'acide lactique et l'acide pyruvique servent de donateurs d'électrons :



Ces réactions montrent que l'oxydation anaérobie des substrats est incomplète puisqu'elle s'arrête uniformément au stade de l'acide acétique, ce qui laisse supposer que les sulfato-réducteurs sont incapables d'oxyder l'acide acétique par le cycle de l'acide citrique (STANIER et coll., 1966). En dehors de l'acide lactique ou de l'acide

pyruvique, les donneurs d'électrons peuvent être l'acide malique, l'acide formique, la choline, les alcools primaires simples, certains de ces composés résultant de la dégradation anaérobie de la cellulose ou d'autres composés hydrocarbonés.

b) *Utilisation de l'hydrogène moléculaire.* — Dans les biotopes où les substrats organiques sont peu abondants, certaines Bactéries sulfato-réductrices dotées d'une hydrogénase utilisent l'hydrogène moléculaire comme source d'énergie et d'électrons. La réaction globale de sulfato-réduction est alors de la forme :



On a pensé longtemps que ces Bactéries sulfato-réductrices étaient capables de se développer autotrophiquement, c'est-à-dire en utilisant comme seule source d'énergie, de pouvoir réducteur et de carbone, l'hydrogène moléculaire et le CO_2 . En fait, si elles utilisent bien l'hydrogène moléculaire comme source d'énergie, elles ont besoin, en outre, de petites quantités de composés carbonés pour satisfaire leurs exigences en carbone. Ce ne sont donc pas de vrais autotrophes mais des *hémi-chimolithotrophes* ou *litho-hétérotrophes* (SENEZ, 1962 ; POSTGATE, 1965).

On a démontré que certaines souches de sulfato-réducteurs fixent l'azote atmosphérique (LE GALL et coll., 1959), mais on ignore encore l'importance effective de cette fixation dans les sols.

2° Micro-organismes responsables de la réduction de composés moins oxydés que les sulfates

Les composés du soufre moins oxydés que les sulfates (sulfites, polythionates, thio-sulfates, soufre élémentaire) sont réduits plus facilement que les sulfates. Cette réduction est non seulement le fait des Bactéries sulfato-réductrices que l'on vient de décrire, mais aussi de nombreux autres micro-organismes : Bactéries, Champignons, Actinomyètes (STARKEY, 1966).

II. — FACTEURS ÉCOLOGIQUES RÉGISSANT LA SULFATO-RÉDUCTION DANS LE SOL

La sulfato-réduction apparaît dans le sol lorsque les trois conditions suivantes sont réunies :

- 1° présence de sulfates ;
- 2° anaérobiose stricte ;
- 3° teneur suffisante en substances donatrices d'électrons.

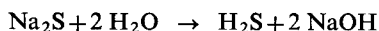
Ces conditions écologiques rappellent celles qui régissent l'activité des micro-organismes dénitrificateurs ; elles en diffèrent cependant par le double fait que le Eh optimal de la sulfato-réduction est bien inférieur au Eh optimal de la dénitrification (les sulfato-réducteurs sont des micro-organismes anaérobies beaucoup plus *stricts*) et que l'accepteur d'électrons est le sulfate et non le nitrate. Ces conditions se trouvent réunies dans les sols soumis à une hydromorphie très réductrice (cf. p. 407), les vases boues, sédiments d'estuaires ou marins (sols de mangrove), dont la couleur noire est due à l'accumulation de sulfures de fer. Elle se rencontre fréquemment dans les sols salés mal drainés (cf. paragraphe suivant) où la sulfato-réduction se manifeste parfois localement dans un horizon réduit intercalé entre des horizons plus oxydés.

Les micro-organismes sulfato-réducteurs peuvent se développer dans des milieux non entièrement dépourvus d'oxygène à l'origine, à condition d'être associés à des micro-organismes consommateurs d'oxygène. Quant à l'azote ammoniacal qui leur est nécessaire, les sulfato-réducteurs en trouvent en général en quantité suffisante dans les sols où ils se multiplient ; cet élément ne constitue donc pas en pratique un facteur limitant pour ces micro-organismes.

III. — CONSÉQUENCES DE LA SULFATO-RÉDUCTION

1° Alcalinisation du sol et accumulation de carbonates ou bicarbonates

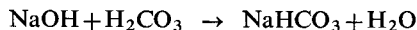
Contrairement à la sulfo-oxydation, qui acidifie le sol, la sulfato-réduction l'alcalinise. En effet, en présence d'eau, les sulfures hydrolysables, sulfures de sodium et de calcium, provenant de la réduction des sulfates donnent naissance à des bases :



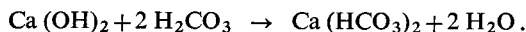
ou



Le gaz carbonique, qui résulte de l'activité microbienne ou de la respiration végétale, réagit sur la soude (ou l'hydroxyde de calcium) pour former des bicarbonates et des carbonates :



ou



Les conditions favorables à des réactions de ce type se rencontrent fréquemment dans les sols salés : 1° mal drainés ; 2° enrichis en sulfates par les eaux ; 3° enrichis en matière organique par la végétation halophile ou les Algues (ABD-EL-MALEK et RIZK, 1963 ; WHITTIG et JANITZKY, 1963 ; OGATA et BOWER, 1965 ; GALSTYAN, 1967).

2° Toxicité des sulfures

Dans certains sols, la teneur d'hydrogène sulfuré *libre* est telle qu'elle provoque chez les plantes des troubles biologiques variés comme la pourriture des racines du Riz ou l'inhibition de l'absorption des éléments nutritifs, qui est à l'origine de déficiences ou d'invasions secondaires par des parasites (VAMOS, 1959 ; TAKAI et KAMURA, 1966).

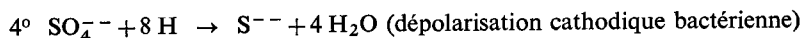
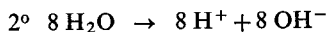
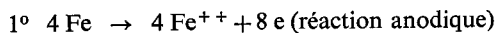
Des accidents de cette nature ont été signalés non seulement sur le Riz, mais aussi sur la Luzerne, le Coton, la Fève dans certains sols irrigués riches en sulfates (cf. p. 578). Ils sont cependant rares car, sauf s'il est produit dans la rhizosphère elle-même, c'est-à-dire en contact avec la racine, l'hydrogène sulfuré réagit sur le fer actif du sol et précipite sous forme de sulfure de fer qui est inoffensif ; il est toutefois des sols (rizières dégradées, sols salés) où la teneur en fer actif est insuffisante et où la teneur en hydrogène sulfuré libre peut atteindre et dépasser le seuil de toxicité (cf. p. 407).

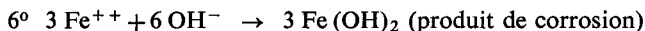
Dans les étangs et les lacs, ainsi qu'en milieu marin (et aussi dans certains sols hydromorphes), la teneur en hydrogène sulfuré est faible car, au fur et à mesure de sa production, ce composé est réoxydé par les micro-organismes sulfo-oxydants. Mais, pour diverses raisons, telles qu'une élévation de température, la sulfo-oxydation peut être ralentie anormalement alors que la sulfato-réduction est encore active : il en résulte une accumulation d'hydrogène sulfuré qui diffuse dans le milieu et provoque la mort de nombreux organismes (SENEZ, 1962).

3° Corrosion anaérobie des métaux dans le sol.

La corrosion des métaux — notamment du fer et de l'acier — est fréquente dans les sols argileux neutres et mal aérés ainsi que dans les eaux très polluées. La corrosion est inexistante aux pH acides.

Il s'agit d'un processus où sont impliquées les *Bactéries sulfato-réductrices* et non les Bactéries du fer. Le mécanisme de cette corrosion bactérienne n'est pas encore élucidé de façon certaine. La théorie actuellement la plus fréquemment admise est celle de la *dépolarisation cathodique* (BOOTH, 1964 ; POSTGATE, 1965). Les *Desulfovibrio* interviendraient en agissant en tant qu'agents de dépolarisation, en consommant l'hydrogène disponible dans les zones cathodiques du métal pour réduire les sulfates en sulfures. Le mécanisme proposé est le suivant :





On a démontré que les souches de *Desulfovibrio* possédant une hydrogénase peuvent dépolariser la cathode, alors que les souches ne possédant pas cette enzyme en sont incapables (BOOTH, 1964).

Certains auteurs nient l'intervention des *Desulfovibrio* dans les processus cathodiques et admettent que ces micro-organismes interviennent seulement par l'intermédiaire des sulfures qu'ils produisent et qui réagissent au niveau de l'anode. Cette deuxième théorie suppose que l'hydrogène utilisé par ces Bactéries proviendrait d'un donateur d'hydrogène organique.

En fait, il est probable que, si le mécanisme de la dépolarisation cathodique joue un rôle majeur avec certaines souches de sulfato-réducteurs, les processus anodiques peuvent être les seuls à intervenir avec d'autres souches.

4° Insolubilisation du fer

On sait que, très généralement, l'hydromorphie réductrice entraîne une acidification du sol qui favorise la solubilisation du fer sous sa forme Fe^{++} . Mais, si l'anoxymbiose est très marquée et si le sol est approvisionné en sulfates, les phénomènes de sulfato-réduction peuvent se développer et entraîner une insolubilisation du fer ; celle-ci résulte, en effet, de l'élévation du pH qui accompagne la sulfato-réduction et de la réaction avec les sulfures (STARKEY, 1966).

5° La sulfato-réduction en géomicrobiologie

L'étude de l'activité des micro-organismes sulfato-réducteurs présente un intérêt considérable en géologie car ces Bactéries interviennent :

1° Dans le fractionnement isotopique du soufre dans certains gisements. On sait que le soufre naturel est un mélange d'isotopes dont les deux plus abondants sont ^{32}S et ^{34}S . Lorsque ce soufre est réduit par les Bactéries sulfato-réductrices, celles-ci utilisent de préférence ^{32}S , d'où enrichissement en ^{32}S des sulfures formés par voie biologique (DEEVEY et coll., 1963 ; SENEZ, 1968).

Lorsque, dans un gisement, il n'y a pas enrichissement des sulfures ou de l'hydrogène sulfuré en ^{32}S , on peut affirmer que ce gisement n'est pas d'origine biologique.

2° Dans différentes étapes de la technologie du pétrole (DAVIS et UPDEGRAFF, 1954 ; POSTGATE, 1965).

E. — BILAN DU SOUFRE DANS LES SOLS

Si l'on considère l'ensemble d'un écosystème donné, constitué par les plantes, le sol et la microflore, on constate qu'il bénéficie d'apports extérieurs de soufre ou, au contraire, subit des pertes que nous analyserons ici rapidement. Ces gains et pertes ne sont pas généralement d'origine microbiologique, mais ont des incidences sur le plan biologique ; c'est pourquoi il est nécessaire de les examiner ici.

I. — GAINS DE SOUFRE

a) **Décomposition des roches mères.** — C'est la source majeure de soufre des sols : la plupart des *roches ignées* renferment du soufre (0,05 à 0,3 %) à l'état de sulfures de fer, cuivre, nickel, qui s'oxydent au cours de l'altération ; les *roches sédimentaires* renferment surtout du soufre sous forme de sulfates.

b) **Apports par l'atmosphère.** — Ces apports, qui, en général, sont de l'ordre de 10 kg/ha/an, peuvent atteindre parfois des valeurs considérables : 100 kg/ha/an à proximité de centres industriels (cf. revue de WHITEHEAD, 1964). En dehors des apports résultant de l'activité industrielle, on signalera l'enrichissement de l'atmosphère par libération des sulfures volatils au niveau du plateau continental et transport des sulfates d'origine marine à quelques kilomètres à l'intérieur des terres.

c) **Pratiques culturales.** — Les engrais constituent la principale source extérieure de soufre pour les sols. En effet, une fumure moyenne de :

40 kg d'azote/ha (ammonitrate),

70 kg de P_2O_5 /ha (superphosphate),

60 kg de K_2O /ha (chlorure),

fournit au sol 45 kg de soufre à l'hectare.

L'apport de soufre par les fongicides est beaucoup moins important surtout depuis que l'on utilise les produits modernes pauvres en soufre ou dépourvus de cet élément.

d) **Apports de sulfates par les eaux telluriques.** — Le sol peut s'enrichir en sulfates par les eaux d'irrigation ou par les eaux de nappes souterraines : c'est ainsi que l'on explique la richesse considérable en sulfates des eaux de lacs en région désertique (ABD-EL-MALEK et RIZK, 1963). Ces sulfates permettent le développement d'une microflore sulfato-réductrice induisant la formation de carbonate de soude (cf. p. 254).

II. — PERTES DE SOUFRE

a) **Exportation par les récoltes.** — Nous les signalons ici pour mémoire. Les exportations sont de l'ordre de 10 à 50 kg/ha/récolte.

b) **Lessivage et érosion.** — C'est sous sa forme soluble (sulfates) que le soufre peut être entraîné par lessivage. Ces pertes, comme celles qui concernent les nitrates, sont très variables ; ainsi une étude portant sur huit sols de l'Illinois montre qu'elles varient entre 2 et 60 kg/ha/an (JORDAN et ENSMINGER, 1958). La grande variabilité des pertes par lessivage est, en partie, due au fait que les sols présentent une capacité d'adsorption variable vis-à-vis des sulfates. Les pertes par érosion sont également très variables.

c) **Volatilisation.** — La réduction biologique du soufre à l'état de *sulfures volatils* entraîne des pertes incontestables mais non chiffrées.

CHAPITRE V

TRANSFORMATIONS MICROBIENNES DU PHOSPHORE

Le phosphore est un des éléments essentiels entrant dans la constitution de toutes les cellules vivantes, où il est impliqué dans l'édification des molécules organiques, la synthèse du matériel génétique (acides nucléiques) et dans le déroulement des processus d'accumulation et de transfert d'énergie. On conçoit donc facilement son importance en agronomie, où il constitue un des éléments majeurs dans les fumures.

Dans le sol, le phosphore se présente à la fois sous des formes organiques et sous des formes minérales.

Les formes organiques proviennent des résidus végétaux et animaux ou des cellules microbiennes ; les principales formes organiques sont : la phytine, les nucléoprotéines et les acides nucléiques, les phospholipides et les sucres phosphorylés. Les formes organiques du phosphore représentent en moyenne de 15 à 80 % du phosphore total du sol (MORTENSEN et HIMES, 1964).

En ce qui concerne *le phosphore minéral*, on peut distinguer, si l'on se place au point de vue de l'assimilabilité par les plantes, trois formes :

1° formes immédiatement assimilables : ce sont les ions PO_4^{3-} dans la solution du sol ;

2° formes assimilables après désorption : ce sont les ions PO_4^{3-} adsorbés à la surface des colloïdes du sol par l'intermédiaire des cations Ca^{++} , Fe^{+++} , Al^{+++} qui diffusent dans la solution du sol au fur et à mesure que celle-ci s'appauvrit par suite de la consommation par les plantes ;

3° les formes non assimilables telles que : phosphate tricalcique $[(\text{PO}_4)_2 \text{Ca}_3]$, hydroxy-apatite $[3 (\text{PO}_4)_2 \text{Ca}_3, \text{Ca}(\text{OH})_2]$, carbonate-apatite $[3 (\text{PO}_4)_2 \text{Ca}_3, \text{CO}_3\text{Ca}]$.

La nutrition phosphorée des végétaux se fait presque exclusivement à partir des ions PO_4^{3-} de la solution du sol. Ces ions proviennent en définitive : 1° de la *solubilisation des formes minérales insolubles* ; 2° de la *minéralisation des formes organiques*. Les micro-organismes telluriques interviennent activement dans ces deux types de

transformation bénéfiques pour les plantes. Mais, d'un autre côté, ils peuvent concurrencer ces dernières en utilisant pour leurs besoins une partie des ions PO_4^{3-} disponibles : il s'agit alors d'un phénomène d'*immobilisation* de même nature que le phénomène d'immobilisation de l'azote minéral (fig. 50).

Les micro-organismes peuvent aussi catalyser l'oxydation ou la réduction de l'ion phosphate ; mais on est encore mal renseigné sur ces phénomènes d'oxydation ou de réduction biologique du phosphore que nous évoquerons très rapidement.

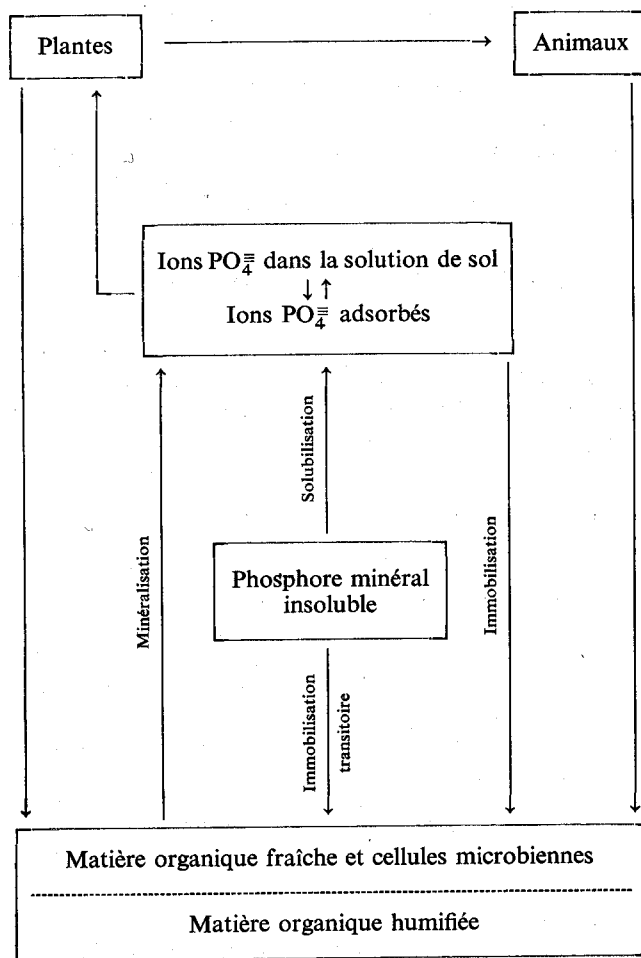


FIG. 50. — Transformations biologiques du phosphore.

A. — SOLUBILISATION MICROBIENNE DES PHOSPHATES INSOLUBLES

I. — MISE EN ÉVIDENCE DE LA NATURE MICROBIENNE DE LA SOLUBILISATION DES PHOSPHATES

Parmi les différentes expériences utilisées pour démontrer l'origine biologique de la solubilisation des phosphates insolubles, nous résumerons celle de GERRETSEN (1949), qui a été conduite avec une grande rigueur. Ce chercheur a comparé la croissance de diverses plantes des genres *Avena*, *Sinapis*, *Helianthus*, cultivées sur sable en présence d'éléments nutritifs tous solubles, à l'exception du phosphore apporté sous forme de phosphate bicalcique ou tricalcique. Les deux traitements comparés étaient les suivants : 1° stérilisation des pots suivie d'un réensemencement avec 1 % de sol non stérile ; 2° stérilisation sans réensemencement. L'assimilation la plus forte du phosphore et la croissance maximale des plantes correspondait au premier traitement, ce qui montre bien qu'il y a intervention active des micro-organismes dans la solubilisation.

L'origine biologique de la solubilisation des phosphates insolubles découle aussi du fait que la stimulation de la microflore tellurique entraîne toujours un accroissement de la teneur du sol en phosphore assimilable. Cette stimulation de la microflore tellurique peut être induite non seulement par un apport de matière organique fraîche, mais aussi, comme l'a montré TARDIEUX-ROCHE (1966), par incorporation de phosphates naturels (phosphates insolubles) ; cet auteur a aussi mis en évidence, à la suite de ce traitement, une accélération du dégagement de gaz carbonique, dont on verra le rôle dans les mécanismes de solubilisation.

II. — MICRO-ORGANISMES RESPONSABLES

Les micro-organismes responsables de la dissolution biologique des phosphates appartiennent à des groupes et à des espèces très diverses ; ils sont relativement abondants dans les sols, où ils peuvent représenter une fraction importante des micro-populations : 10 à 15 % (SPERBER, 1958a ; SWABY et SPERBER, 1958 ; KATZNELSON et coll., 1962) ; des pourcentages encore plus élevés (jusqu'à 95 %) ont été mis en évidence dans certains sols (KOBUS, 1962).

De nombreuses espèces bactériennes s'avèrent actives ; elles appartiennent à des genres très divers (TARDIEUX-ROCHE, 1966) : *Pseudomonas* (ex. *Ps. denitrificans*), *Alcaligenes* (ex. *A. faecalis*), *Achromobacter* (ex. *A. delicatulus*), *Agrobacterium* (ex. *A. radiobacter*), *Aerobacter* (ex. *A. aerogenes*), *Escherichia* (ex. *E. freundii*), *Brevibacterium*, *Micrococcus*, *Flavobacterium*. Quant aux *Arthrobacter*, ils semblent souvent jouer un rôle important : à eux seuls, ils représentent sensiblement la moitié des organismes solubilisant les phosphates dans les conditions expérimentales adoptées par SPERBER (1958a).

On a cherché parfois à mettre à profit l'aptitude de diverses Bactéries (dont *Bacillus megaterium* v. *phosphaticum* et divers *Pseudomonas*) à solubiliser le phosphate pour accroître les rendements agricoles en bactérisant les graines avec des cultures de ces espèces microbiennes ; l'engrais bactérien ainsi préparé est souvent désigné sous le nom de phosphobactérine (cf. p. 586) (MYŚKÓW, 1961 ; SUNDARA RAO et coll., 1963a).

A côté des Bactéries, des Actinomycètes ainsi que des Champignons communs (*Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Sclerotium*) jouent un rôle certain dans les processus de solubilisation (GERRETSEN, 1949 ; SPERBER, 1958a ; MYŚKÓW, 1961 ; KATZ-NELSON et coll., 1962).

III. — MÉCANISMES DE SOLUBILISATION MICROBIENNE

La solubilisation microbienne du phosphore peut résulter : 1° soit de réactions entre les phosphates insolubles et les produits de métabolisme microbien qui s'accumulent en dehors des cellules ; 2° soit de l'assimilation par les micro-organismes telluriques des phosphates insolubles suivie d'une libération dans le sol de produits phosphorés facilement utilisables par les plantes. Dans le premier cas, on parlera de *solubilisation microbienne directe*, dans le deuxième, de *solubilisation microbienne succédant à une immobilisation transitoire*.

1° Solubilisation microbienne directe

Les micro-organismes synthétisent des substances qui agissent à la fois par abaissement du pH et par chélation des cations responsables de la fixation du phosphate (WHITEHEAD, 1963).

Les phosphates de calcium sont solubilisés par toutes sortes d'acides, y compris le gaz carbonique résultant des processus d'oxydation biologique. On a signalé à propos de l'étude de l'oxydation des composés soufrés (p. 247) que l'acide sulfurique produit par les *Thiobacillus* pouvait solubiliser le phosphore dans des composts composés de sol, de fumier, de soufre élémentaire et de phosphates naturels (procédé

Lipman). La nitrification induit aussi une solubilisation significative du phosphore des phosphates naturels. Mais l'effet des acides résultant de l'activité microbienne est plus marqué si ces produits présentent, en outre, la propriété de former des chélates avec le calcium : c'est le cas de l'acide 2-cétogluconique (DUFF et WEBLEY, 1959) qui s'avère particulièrement efficace dans la solubilisation de l'apatite naturelle, bien qu'elle soit plus résistante que l'apatite synthétique.

En milieu acide, les phosphates de fer et d'aluminium sont solubilisés seulement par les acides qui séquestrent les cations Fe^{+++} et Al^{+++} : l'acide le plus actif à ce point de vue est l'acide citrique suivi des acides succinique, malique, oxalique, tartrique et lactique. La solubilisation du phosphate peut aussi résulter de l'action d'hydrogène sulfuré d'origine microbienne sur le phosphate de fer avec production de sulfure de fer et libération de phosphate. Cette réaction existe aussi bien en milieu aéré que dans les sols hydromorphes. On sait, en effet, que certains micro-organismes — tel *Bacillus megaterium* — peuvent produire de l'hydrogène sulfuré en aérobiose, mais la réaction est plus importante dans un environnement anaérobie favorable à la réduction biologique du soufre (SPERBER, 1958b ; SWABY et SPERBER, 1958).

On remarquera enfin qu'en dehors des acides organiques à poids moléculaire faible, l'humus — dont on connaît l'origine partiellement microbienne — peut former des complexes et des chélates avec le fer et l'aluminium et ainsi participer à la solubilisation des phosphates (MACURA, 1966).

2° Solubilisation microbienne succédant à une immobilisation transitoire

Il est certaines espèces microbiennes qui sont capables d'assimiler directement les phosphates insolubles ; elles accumulent à l'intérieur de leurs cellules de grandes quantités de phosphore, en partie sous forme minérale (polyphosphates), en partie sous forme organique. Le phosphore ainsi *immobilisé transitoirement* dans les cellules microbiennes (cf. fig. 50) est ensuite libéré dans le sol suivant divers mécanismes (excrétion d'orthophosphate par les cellules ayant accumulé des polyphosphates, ou autolyse des cellules bactériennes) qui mettent à la disposition des plantes : 1° des *ions orthophosphoriques* provenant soit des polyphosphates, soit de la dégradation — par les phosphatases du sol — des molécules phosphorées ; 2° *certaines complexes phosphorés organiques* pouvant pénétrer dans le végétal sans minéralisation préalable. Ce mécanisme de solubilisation en deux étapes mis en évidence par TARDIEUX-ROCHE (1966) vient d'être confirmé par NAPLEKOVA (1967).

Dans l'état actuel de nos connaissances, il est difficile de préciser l'importance relative des divers mécanismes que l'on vient de décrire. La solubilisation résultant de l'acidification par les produits de métabolisme microbien a été mise en doute par

certain auteurs, qui n'ont pu déceler dans les sols normalement drainés que de très faibles quantités d'acide. Mais si l'on se place à l'échelle du microhabitat, on remarque que localement les teneurs en acides organiques peuvent être élevées, notamment à proximité de particules de matière organique en voie de décomposition ; il en est de même au niveau de la rhizosphère (cf. p. 573).

IV. — FACTEURS ÉCOLOGIQUES RÉGISSANT LE PROCESSUS GLOBAL DE SOLUBILISATION MICROBIENNE DES PHOSPHATES DANS LE SOL

La solubilisation des phosphates naturels ne présente pas d'exigences écologiques précises, vraisemblablement en raison du très grand nombre d'espèces de micro-organismes impliquées dans ce processus.

a) **pH.** — La microflore solubilisant les phosphates est, dans son ensemble, peu sensible au facteur pH. TARDIEUX-ROCHE (1966) a toutefois remarqué une légère influence favorable des pH élevés (7,8 à 7,9) sur cette microflore.

b) **Hydromorphie.** — En milieu hydromorphe, les teneurs en acides organiques peuvent être élevées dans l'ensemble du sol et non seulement à l'intérieur de micro-habitats. C'est à l'abondance des acides organiques d'origine microbienne que GASSER et BLOOMFIELD (1955) attribuent l'accroissement de la solubilisation du phosphate ferrique par des résidus végétaux se décomposant en anaérobiose.

c) **Matière organique.** — D'après TARDIEUX-ROCHE (1966), la teneur du sol en matière organique *humifiée* est sans effet sur la densité des micro-organismes solubilisant les phosphates. Par contre, la matière organique *fraîche* s'avère favorable à la prolifération de ces micro-organismes, puisqu'elle induit une activation de la solubilisation (cf. *supra*, p. 261).

d) **Effet rhizosphérique.** — La microflore solubilisant les phosphates est souvent stimulée dans la rhizosphère (SPERBER, 1958a ; TARDIEUX-ROCHE, 1966). Mais cette stimulation ne semble pas présenter un caractère préférentiel marqué : elle est du même ordre de grandeur que celle qui intéresse les autres secteurs de la microflore (tableau XL).

TABLEAU XL. — EFFET RHIZOSPHERIQUE VIS-À-VIS DES MICRO-ORGANISMES SOLUBILISANT LES PHOSPHATES INSOLUBLES (KATZNELSON et coll., 1962)

PLANTE	DENSITÉ DES MICRO-ORGANISMES SOLUBILISANT LES PHOSPHATES (en millions/g de sol)		POURCENTAGE DE MICRO-ORGANISMES SOLUBILISANT LES PHOSPHATES PAR RAPPORT À LA MICROFLORE TOTALE	
	Rhizosphère	Sol hors rhizosphère	Rhizosphère	Sol hors rhizosphère
Blé	24	1,5	13	10
Trèfle rouge	61	1,6	11	11
Lin	500	1,7	10	11
Avoine	20	1,4	4	10
Orge	18	1,4	19	10

B. — MINÉRALISATION MICROBIENNE DU PHOSPHORE ORGANIQUE

Pour être utilisé par les végétaux, le phosphore organique — comme l'azote ou le soufre organiques — doit au préalable être minéralisé ; mais, contrairement aux nitrates et aux sulfates, qui sont réduits lorsqu'ils sont assimilés par les plantes, les phosphates restent à l'état oxydé dans les combinaisons organiques.

I. — FORMES DU PHOSPHORE ORGANIQUE DANS LE SOL

La fraction phosphorée organique du sol est constituée de phytine, d'acides nucléiques et de phospholipides.

a) *Phytine et substances apparentées.* — A côté de la phytine — qui est le sel de magnésium et de calcium de l'acide phytique (acide phytique est synonyme d'hexaphosphate d'inositol) — on trouve dans le sol les substances apparentées suivantes : inositol, monophosphate d'inositol, triphosphate d'inositol. Toutes ces substances sont essentiellement d'origine végétale. La phytine et les substances apparentées représenteraient en moyenne de 40 à 80 % du phosphore organique dans les sols (I. L. STEVENSON, 1964).

b) *Acides nucléiques et nucléoprotéines.* — Les acides nucléiques et nucléoprotéines⁽¹⁾ du sol sont d'origine végétale — ou animale — et surtout d'origine microbienne. Leur teneur dans le sol est comprise entre 0 et 10 % (I. L. STEVENSON, 1964).

c) *Phospholipides.* — Ces composés, qui résultent de la combinaison d'un lipide et de phosphate, semblent peu abondants dans les sols.

En dehors de ces trois groupes de composés phosphorés organiques, il existe dans le sol d'autres composés phosphorés se présentant sous des formes encore inconnues.

II. — MICRO-ORGANISMES RESPONSABLES

Les micro-organismes responsables de la minéralisation du phosphore organique appartiennent à de nombreuses espèces de Bactéries et Champignons.

Chez le genre *Bacillus*, les espèces suivantes se sont révélées actives vis-à-vis de diverses formes de phosphore organique : *B. megaterium*, *B. subtilis*, *B. malabarensis*. *B. megaterium* jouerait donc un rôle non seulement dans la solubilisation des phosphates minéraux insolubles mais aussi dans la minéralisation du phosphore organique, accroissant ainsi, par deux mécanismes différents, la teneur du sol en phosphore assimilable, d'où son intérêt pour la préparation des engrais bactériens (cf. p. 593). Parmi les Bactéries minéralisant le phosphore, on peut encore citer certaines espèces appartenant aux genres *Serratia*, *Proteus*, *Arthrobacter*.

Quant aux Champignons, l'aptitude à minéraliser le phosphore est connue chez des espèces des genres suivants : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Cunninghamella*.

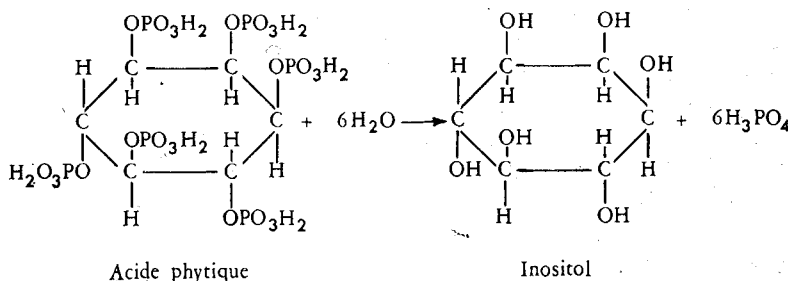
Les Actinomycètes interviennent également puisque l'on a pu mettre en évidence le rôle actif de souches de *Streptomyces* dans la dégradation de l'acide nucléique et du glycérophosphate (PACEWICZOWA, 1960).

Dans le sol, les micro-organismes minéralisant le phosphore organique peuvent représenter jusqu'à 70 à 80 % de l'ensemble de la micropopulation (MYŚKÓW, 1961 ; KOBUS, 1962).

(1) *Les acides nucléiques* (acide ribonucléique ou ARN et acide déoxyribonucléique ou ADN) sont des polymères de l'unité de base ou mononucléotide constituée elle-même d'une base (purine ou pyrimidine), d'un sucre et de phosphate ; on peut donc les représenter schématiquement comme suit : (base-sucre-P)_n. Les *nucléoprotéines* résultent de la combinaison de protéines et d'acides nucléiques.

III. — MÉCANISMES DE MINÉRALISATION DU PHOSPHORE ORGANIQUE

De très nombreux micro-organismes telluriques synthétisent les enzymes déphosphorylant la phytine, les acides nucléiques ou les nucléoprotéines avec libération de phosphate suivant des réactions du type :



Si ces réactions enzymatiques sont rapides lorsqu'elles intéressent la phytine ou les nucléoprotéines exogènes — c'est-à-dire incorporées artificiellement au sol — il n'en est plus de même lorsqu'il s'agit de substances endogènes (natives) préexistant spontanément dans le sol. La déphosphorylation est alors lente. Ce ralentissement des réactions enzymatiques ne peut être imputé à l'absence de phytases, qui sont synthétisées par de nombreux micro-organismes telluriques ; il serait dû :

1° à la formation de complexes résistant à l'attaque enzymatique : complexes organiques de poids moléculaire élevé desquels l'hexaphosphate d'inositol n'est libéré que sous l'effet d'une hydrolyse alcaline (ALEXANDER, 1965a), ou complexes avec le fer et l'aluminium (phytates de fer et d'aluminium insolubles) dans le cas de sols acides (ALEXANDER, 1961 ; I. L. STEVENSON, 1964) ;

2° à l'adsorption sur les argiles des dérivés de la phytine (hexosephosphates, glycérophosphates), des protéines et des acides nucléiques des nucléoprotéines (JACKMAN et BLACK, 1952 ; I. L. STEVENSON, 1964), cette adsorption augmentant lorsque le pH diminue (ALEXANDER, 1965a).

IV. — FACTEURS ÉCOLOGIQUES RÉGISSANT LE PROCESSUS GLOBAL DE MINÉRALISATION MICROBIENNE DU PHOSPHORE ORGANIQUE DANS LE SOL

Dans la plupart des sols, la minéralisation du phosphore est régie par les mêmes facteurs que la minéralisation du carbone et de l'azote. Elle présente toutefois certaines particularités qui découlent du fait que les débris végétaux, qui sont la principale

source de phosphore organique du sol, renferment des teneurs relativement élevées en phosphore minéral, et du fait que la microflore qui intervient est sensiblement plus spécialisée que la microflore minéralisant le carbone ou l'azote jusqu'au stade ammoniacal.

a) **Composition du substrat organique; rapport C/P.** — Des trois principales formes de phosphore organique énumérées plus haut, la plus sensible à la déphosphorylation est incontestablement la fraction « acides nucléiques et nucléoprotéines », suivie de la fraction lécithine. La phytine est dégradée beaucoup plus lentement (PEARSON et coll., 1941). En conséquence, le phosphore organique d'origine végétale, constitué essentiellement de phytine, est minéralisé beaucoup moins rapidement que le phosphore organique d'origine microbienne (BIRCH, 1961).

De même que l'on a défini pour l'étude de la minéralisation de l'azote un rapport critique C/N, on peut faire appel ici au rapport critique C/P, qui est de l'ordre de 200 à 300. En dessous de cette valeur, on peut s'attendre à une prédominance des processus de minéralisation brute sur les processus d'immobilisation brute. Mais les faibles valeurs du rapport C/P (150) n'impliquent pas toujours une libération du phosphore minéral (BIRCH, 1964; ENWEZOR, 1966) et il apparaît nécessaire de se montrer très prudent dans l'interprétation de ce rapport.

b) **pH.** — La minéralisation du phosphore est plus sensible à l'action du pH que la minéralisation du carbone ou de l'azote; une élévation du pH du sol induit en effet, en général, une accélération de la minéralisation plus marquée pour le phosphore que pour le carbone ou l'azote organiques (I. L. STEVENSON, 1964). Les pH les plus favorables sont compris entre 6,0 et 7,0 (PACEWICZOWA, 1960).

c) **Humidité et composition de l'atmosphère du sol.** — Dans certains types de sol, la minéralisation du phosphore est fortement stimulée par l'anaérobiose; mais ce n'est pas toujours le cas. Les alternances d'humidité et de dessiccation favorisent la minéralisation du phosphore, comme elles favorisent la minéralisation de l'azote (cf. *Hygropériodisme*, p. 422).

d) **Température.** — La minéralisation nette du phosphore est favorisée par les températures élevées : 40 ° et même 50 °C, aussi bien dans les sols de région tempérée que dans des sols tropicaux. On ignore si cet accroissement de la minéralisation nette résulte d'un accroissement de la minéralisation brute ou d'une diminution de l'immobilisation sous l'effet des températures élevées.

e) **Végétation.** — L'effet rhizosphérique sur les micro-organismes minéralisant le phosphore organique a été peu étudié, comparativement à l'effet sur les micro-organismes dissolvant les phosphates minéraux insolubles. On peut toutefois penser avec MYŚKÓW (1961) que la rhizosphère constitue un habitat favorable à la prolifération de ces micro-organismes.

C. — IMMOBILISATION MICROBIENNE DU PHOSPHORE MINÉRAL

L'assimilation de l'ion orthophosphorique est un processus d'anabolisme étroitement lié à l'activité microbienne et l'on a montré, avec ^{32}P , que le transfert du phosphore dans les acides nucléiques suit le rythme de la croissance et de la reproduction des micropopulations (MAYAUDON et SIMONART, 1964). Lorsqu'ils se multiplient, les micro-organismes immobilisent donc dans leurs cellules une partie du phosphore assimilable du sol. A la suite de l'incorporation au sol d'un substrat à rapport C/P élevé provoquant une prolifération importante des micro-organismes telluriques, on peut donc craindre une baisse importante de la teneur en phosphore assimilable comparable à la baisse de la teneur du sol en azote minéral à la suite d'un apport de matière organique dont le rapport C/N est élevé. En fait, la plupart des résidus organiques incorporés au sol n'induisent pas une immobilisation nette du phosphore suffisante pour gêner le développement des végétaux. On peut expliquer la discrétion de l'immobilisation nette du phosphore : 1° par la teneur relativement élevée en phosphore minéral des résidus végétaux, déjà signalée ; 2° par la déphosphorylation facile et rapide du phosphore organique des cellules microbiennes (nucléoprotéines) après la mort des micro-organismes et leur lyse.

Le problème de l'immobilisation du phosphore présente donc, sur le plan agronomique, une importance moins grande que le problème de l'immobilisation de l'azote. C'est seulement lors de l'incorporation au sol de résidus à rapport C/P très élevé (de l'ordre de 200 à 300) que l'on peut craindre l'apparition de carences phosphatées ayant pour origine l'immobilisation microbienne.

Les facteurs écologiques régissant l'immobilisation du phosphore sont, bien entendu, les mêmes que ceux qui régissent la minéralisation, mais leur domaine d'action est inversé.

D. — RÉACTIONS D'OXYDO-RÉDUCTION

De nombreux micro-organismes hétérotrophes s'avèrent capables d'assimiler le phosphore à l'état de phosphite, ce qui laisse supposer qu'ils oxydent le phosphite à l'état de phosphate à l'intérieur de leurs cellules :



Inversement, on a montré qu'en milieu réducteur, les phosphates pouvaient être réduits biologiquement à l'état de phosphite et d'hypophosphite :



Ces processus de réduction semblent être très peu importants dans les sols.

CHAPITRE VI

TRANSFORMATIONS MICROBIENNES DU FER

L'étude des formes du fer et de leurs transformations présente un double intérêt :

— *sur le plan agronomique*, il est indispensable de savoir si le fer, qui se trouve pourtant en abondance dans le sol, s'y présente sous une forme assimilable par les plantes (les exemples de carences en fer ne sont pas exceptionnels).

— *sur le plan de la pédogenèse*, il importe de distinguer les *formes solubles* (ions ferreux) ou *pseudosolubles* (complexes organo-ferriques) qui migrent facilement, des *formes non solubles* (par exemple, hydrate ferrique) qui précipitent en un point ou un autre du profil.

Dans l'un et l'autre cas, il apparaît nécessaire de connaître les lois qui régissent le passage d'une forme à l'autre. Ces transformations résultent de processus physiques, chimiques et physico-chimiques, qui ont été exposés par ailleurs (DUCHAUFOR, 1965 ; SEGALIN, 1964) et aussi de processus de nature biologique que nous examinerons ici en détail.

Certains micro-organismes telluriques peuvent transformer *directement* une forme donnée du fer en une autre : c'est le cas des ferrobactéries qui, on le verra, oxydent le fer ferreux en fer ferrique suivant une réaction de nature exclusivement biologique. D'autres micro-organismes interviennent *indirectement* en modifiant par exemple le Eh et le pH du milieu d'où apparition de nouvelles formes du fer, réglées, cette fois, par des équilibres de nature physico-chimique.

A. — PRINCIPALES TRANSFORMATIONS DE NATURE BIOLOGIQUE

1° Oxydation biologique du fer ferreux

Si l'oxydation biologique du fer dans les eaux est bien établie depuis longtemps, il n'en est pas de même dans le sol et il a fallu attendre les travaux de GLEEN (1950) pour que l'existence d'un processus homologue soit démontrée avec certitude. En

faisant perfuser sur une colonne de sol une solution d'un sel ferreux (FeSO_4) à pH 3,0, ce chercheur obtient en huit jours une oxydation portant sur plus de la moitié du fer ferreux (fig. 51). Cette oxydation ne peut être d'origine chimique puisque au pH de 3,0, le sel ferreux est chimiquement stable.

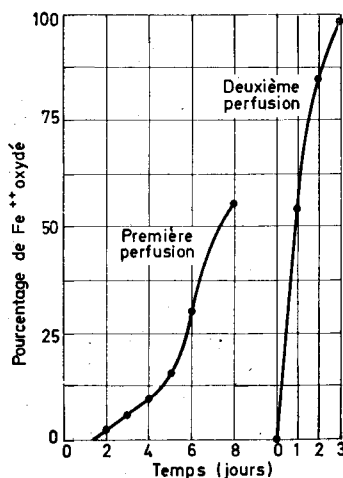


FIG. 51. — Oxydation microbienne du fer ferreux dans un sol maintenu à pH 3,0 (GLEEN, 1950). A gauche, 1^{re} perfusion effectuée avec une solution de FeSO_4 (M/40) ; à droite, 2^e perfusion effectuée, avec une solution fraîche de FeSO_4 , sur la colonne de sol préalablement lavée.

D'autres faits viennent confirmer la nature biologique de ce processus, à savoir :

1° la réduction du temps de latence observée lors de la deuxième perfusion, sur la même colonne de terre, d'une solution fraîche de fer ferreux, réduction qui s'explique seulement par l'activation de la microflore bactérienne au cours de la première perfusion ;

2° l'allure sigmoïde de la courbe d'oxydation en fonction du temps, qui est caractéristique d'un phénomène biologique ;

3° l'arrêt de l'oxydation en présence de doses faibles d'inhibiteurs enzymatiques, qui sont sans effet sur les réactions de nature chimique.

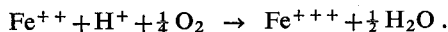
a) Oxydation biologique directe. — 1° **En aérobiose.** — Les sidéro-Bactéries ou ferro-Bactéries oxydent le fer ferreux et provoquent la précipitation de cet élément sous forme d'hydroxyde ferrique autour des cellules, souvent dans la capsule ou dans la gaine. Ils se développent de préférence dans les eaux pauvres en matière organique soluble, assez bien pourvues en O_2 et contenant des sels ferreux ou manganeux. Parmi les genres les plus répandus, nous citerons les suivants : *Gallionella*, *Leptothrix*, *Sphaerotilus*, *Crenothrix*, *Thiobacillus* et *Ferrobacillus* (tableau XLI). Sur le plan physiologique, on peut distinguer parmi ces Bactéries :

1° des chimiolithotrophes considérés classiquement comme obligatoires, tels que

TABLEAU XLI. — SYSTÉMATIQUE DES FERRO-BACTÉRIES
(d'après ALEXANDER, 1961)

ORDRE	FAMILLE	PRINCIPALES CARACTÉRISTIQUES	PRINCIPAUX GENRES
<i>Pseudomonadales</i> (<i>pro parte</i>)	CAULOBACTÉRIACÉES	Bactéries Gram négatives, en bâtonnets, essentiellement aquatiques, non filamenteuses, reliées au substratum par un pédoncule (site d'accumulation de l'hydroxyde de fer) ou flottant en zooglées à la surface de l'eau	<i>Caulobacter</i> <i>Gallionella</i> <i>Siderophacus</i>
	SIDÉROCAPSACÉES	Bactéries Gram négatives, en bâtonnets, sphériques ou ellipsoïdales	<i>Siderocapsa</i> <i>Siderosphaera</i> <i>Ferribacterium</i> <i>Naumannella</i> <i>Ochrobium</i> <i>Sideromonas</i> <i>Sideronema</i>
		Capsules renfermant des sels de fer et de manganèse	<i>Ferrobacillus</i> <i>Siderobacter</i> <i>Siderococcus</i>
<i>Chlamydo-bactériales</i> (bactéries ferrugineuses filamenteuses)	CHLAMYDOBACTÉRIACÉES	Bactéries filamenteuses enfermées dans une gaine souvent imprégnée de sels ferriques ou manganeux ; ressemblent à des Algues	<i>Leptothrix</i> <i>Sphaerotilus</i> <i>Toxothrix</i>
	CRÉNOTHRICHACÉES	Famille très proche des Chlamydobactériacées mais différant par l'absence de mobilité des conidies	<i>Crenothrix</i> <i>Clonothrix</i>

Gallionella ferruginea, *Thiobacillus ferrooxidans*, *Ferrobacillus ferrooxidans*, qui tirent l'énergie nécessaire à leur croissance exclusivement de réactions du type :



Le rendement énergétique de ces réactions étant faible, les ferro-Bactéries doivent oxyder de grandes quantités de composés ferreux, d'où l'abondance des précipitations d'hydroxyde ferrique. *Thiobacillus ferrooxidans*, qui d'après UNZ et LUNDGREN (1961) serait le même micro-organisme que *Ferrobacillus ferrooxidans*, possède la propriété remarquable de se développer, et d'oxyder le fer divalent à un pH très acide (2,0 à 6,5), alors que les autres ferro-Bactéries sont plutôt neutrophiles : on le rencontre dans les eaux acides de drainage des mines de charbon.

2° des chimolithotrophes facultatifs, tel *Leptothrix ochracea*, qui utilisent aussi bien l'énergie résultant de l'oxydation du fer ferreux que celle qui résulte de l'oxydation de substrats organiques.

Les ferro-Bactéries sont bien connues en tant que micro-organismes aquatiques ; à ce titre, elles intéressent l'agronome, car ces micro-organismes sont responsables des dépôts de fer dans les tuyaux de drainage (SPENCER et coll., 1963). Les ferro-Bactéries vivent aussi dans le sol : ainsi MCKENZIE (1962) a isolé des Bactéries du genre *Sphaerotilus* dans l'horizon B d'un podzol bien drainé. Mais il est probable que le rôle, dans le sol, de ces micro-organismes responsables de l'oxydation biologique directe du fer est très limité. En fait, l'oxydation du fer y serait donc essentiellement le résultat de processus biologiques indirects (voir plus bas) ou de processus physico-chimiques.

2° En anaérobiose. — Certains micro-organismes anaérobies tels que le *Sporovibrio ferrooxidans* possèderaient la propriété d'oxyder le fer ferreux en présence de nitrates (POCHON et DE BARJAC, 1958).

b) *Oxydation biologique indirecte*. — A côté de l'oxydation biologique directe, que l'on vient d'examiner, il existe une oxydation biologique indirecte résultant de l'action des micro-organismes sur le milieu : ainsi, en enrichissant le milieu en O_2 , les Algues élèvent le Eh (MAKSIMOVA et FEDENKO, 1965) et provoquent une oxydation chimique du fer réduit.

2° Réduction biologique du fer ferrique

Lorsqu'il se trouve placé dans des conditions moyennement réductrices (cf. p. 406), le sol n'est pas seulement le siège de processus de réduction de nature non biologique (BLOOMFIELD, 1951 ; CRAMPTON, 1962) mais aussi de processus de nature biologique dont l'intensité est parfois considérable. Pour les mettre en évidence, il suffit, par exemple, de comparer l'accumulation de fer ferreux dans deux lots d'échantillons de sol dont l'un

a été additionné d'antibiotiques et dont l'autre est constitué par les témoins. L'accumulation du fer ferreux est très fortement déprimée dans le lot de sols traité aux antibiotiques, la diminution pouvant représenter jusqu'à 93 à 98 % de la quantité de fer ferreux produit dans les témoins, même si l'on a procédé au préalable à un enrichissement avec une matière facilement métabolisable comme de la farine de Trèfle ou de Pois (TAKAI et KAMURA, 1966).

On peut imaginer deux mécanismes de réduction biologique du fer : une réduction indirecte et une réduction directe, que nous allons examiner successivement.

a) **Réduction biologique indirecte.** — La réduction de l'ion ferrique résulterait de l'action de substances organiques réductrices synthétisées par les micro-organismes et s'accumulant dans le sol. Pour tester cette hypothèse, TAKAI et KAMURA (1966) ont enrichi des échantillons de sol, stérilisés au préalable, avec des produits réducteurs provenant du métabolisme bactérien : acide oxalique, aldéhyde, etc. Après incubation, l'accumulation de fer ferreux dans ces échantillons est négligeable à côté de l'accumulation observée dans des sols non stériles, non enrichis avec ces produits réducteurs. L'hypothèse est infirmée : il est donc probable que, dans le sol, la réduction biologique indirecte joue souvent un rôle effacé. Il est cependant des cas où ce rôle serait plus important (BROMFIELD, 1954 ; MOTOMURA, 1961 ; CRAMPTON, 1962).

b) **Réduction biologique directe.** — La réduction de l'ion ferrique serait étroitement liée au métabolisme des micro-organismes.

Un premier argument, théorique, en faveur de cette deuxième thèse réside dans le fait que la réduction du fer ferrique est une réaction endergonique et qu'elle doit être

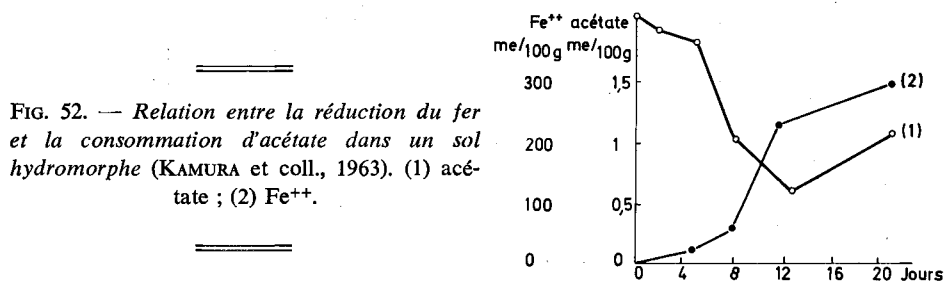


FIG. 52. — Relation entre la réduction du fer et la consommation d'acétate dans un sol hydromorphe (KAMURA et coll., 1963). (1) acétate ; (2) Fe⁺⁺.

couplée avec une réaction productrice d'énergie qui serait l'oxydation d'un substrat par l'intermédiaire d'un système transporteur d'électrons (TAKAI et KAMURA, 1966).

Des arguments de nature expérimentale viennent valider l'hypothèse de la réduction biologique directe. Des expériences conduites avec des cultures bactériennes pures montrent qu'en anaérobiose, des Bactéries anaérobies facultatives dont on connaît l'aptitude à réduire le fer ferrique se développent cinq fois mieux en présence d'hydroxyde ferrique qu'en son absence ; bien plus, la croissance bactérienne est sensiblement proportionnelle à la quantité de fer ferreux produit. Un extrait acel-

lulaire d'une de ces Bactéries peut réduire l'hydroxyde de fer en présence d'acides du cycle tricarboxylique (TAKAI et KAMURA, 1966). Parmi les expériences portant sur le sol lui-même, on citera la suivante : elle consiste à incorporer au sol de l'acétate et à suivre l'enrichissement en fer ferreux d'une part, la disparition de l'acétate d'autre part. On constate qu'il existe une relation étroite entre la réduction du fer ferreux et la dégradation de l'acide (fig. 52). En outre, l'addition à un sol enrichi en acétate d'un inhibiteur du métabolisme de l'acétate (acide monofluoroacétique) à faible dose (10^{-3} M) suspend le processus de réduction du fer. La réduction du fer apparaît donc comme couplée à l'oxydation des substrats organiques tels que l'acide acétique, l'ion ferrique jouant le rôle d'accepteur final d'électrons (KAMURA et coll., 1963). La réduction ne se manifeste pas en présence de l'ion nitrique : lorsqu'il existe dans le sol, cet ion semble en effet être préféré à l'ion ferrique comme accepteur final d'électrons (MOTOMURA, 1962 ; YEZHOF, 1962).

Il existe donc un lien étroit entre la réduction du fer et le métabolisme des micro-organismes. C'est pourquoi l'on peut admettre que, dans le sol, la réduction biologique est souvent essentiellement une réduction directe.

c) **Micro-organismes responsables.** — Les micro-organismes responsables de la réduction du fer ferrique en anaérobiose sont très abondants dans le sol, où leur densité peut atteindre 10^4 à 10^6 unités par gramme de sol. Ils appartiennent à des familles et à des genres très nombreux. Parmi les Bactéries, dont beaucoup sont des anaérobies facultatifs qui sont capables de réduire aussi les nitrates et les manganates (TAKAI et KAMURA, 1966), on signalera, en particulier, *Bacillus polymyxa*, *Bacillus circulans*, *Escherichia freundii*, *Aerobacter aerogenes*.

d) **Facteurs écologiques dominants.** — Les processus de réduction biologique n'apparaissent qu'en anaérobiose ou en semi-anaérobiose, c'est-à-dire : 1° dans l'ensemble du profil pour des sols saturés en eau de façon permanente ou temporaire ; 2° dans des microhabitats — par exemple à l'intérieur d'agrégats — pour les sols non saturés. La réduction biologique du fer, comme la dénitrification, n'est donc pas l'apanage exclusif des sols saturés ou submergés.

3° Synthèse et biodégradation des substances complexant le fer dans le sol

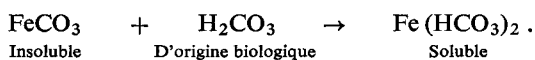
Dans le sol, les processus d'altération, de migration et de précipitation des ions métalliques — et en particulier du fer — ne peuvent s'expliquer sans faire appel aux phénomènes de complexation. On comprend donc facilement l'intérêt que présente, sur le plan pédogénétique, la connaissance des facteurs favorisant la synthèse et la conservation des substances complexantes. Ce problème est abordé dans le chapitre consacré aux complexes organo-métalliques, dont les complexes organo-ferriques ne représentent qu'un cas particulier. On signalera seulement ici que les micro-organismes interviennent à côté des plantes supérieures dans l'approvisionnement du sol en

substances complexantes ; ils interviennent aussi, plus ou moins activement suivant les types pédologiques considérés, en tant qu'agents destructeurs (minéralisateurs) de ces complexes, participant ainsi à la précipitation du fer et à son accumulation dans certains horizons.

4° Solubilisation indirecte du fer

Les micro-organismes qui produisent des acides minéraux (nitrique, sulfurique) ou des acides organiques, accroissent l'acidité au niveau des microhabitats ou même dans l'ensemble du sol, où ils provoquent une solubilisation plus ou moins importante de certains composés du fer.

L'enrichissement du sol en CO_2 sous l'effet d'une activité biologique intense peut entraîner une solubilisation du carbonate de fer suivant la réaction (MANDAL, 1961) :



C'est par la formation de bicarbonate ferreux sous l'effet d'une forte concentration de CO_2 d'origine microbienne dans un sol à hydromull calcique que SCHAEFER (1962) explique la migration du fer ferreux, puis sa précipitation ultérieure sous forme de concrétions de carbonates lorsque la pression partielle du CO_2 diminue.

5° Précipitation du fer par réaction avec les sulfures d'origine biologique

Lorsque le Eh s'abaisse au-dessous de 0 à -200 mV, on observe la réduction du soufre et *a fortiori* celle du fer. Le soufre réduit ($\text{S}^{=}$) provient de la minéralisation du soufre organique ou de la réduction des sulfates par les *Desulfovibrio*. Il réagit sur le fer réduit pour former du sulfure de fer, qui donne au sol une couleur bleuâtre foncée à noire.

B. — RÔLE DES MICRO-ORGANISMES DANS LES PROCESSUS DE RÉDUCTION DE SOLUBILISATION ET DE PRÉCIPITATION DU FER DANS QUELQUES TYPES PÉDOLOGIQUES

1° Réduction du fer dans les sols à gley

Les sols hydromorphes à gley sont caractérisés par un engorgement permanent par l'eau ; cette eau plus ou moins riche en matière organique provoque l'apparition dans l'horizon de réduction, dit de gley, d'une coloration gris verdâtre à gris bleuâtre. La

couleur de l'horizon de gley est due essentiellement au fer ferreux et, dans le cas d'une baisse plus poussée du Eh, au sulfure de fer, produit en anaérobiose par la réaction du fer sur les sulfures. Lorsque le sol renferme des quantités suffisantes de substances métabolisables, le gley a toutes les chances d'être, au moins *pro parte*, d'origine biologique. Il est d'ailleurs facile de reproduire expérimentalement au laboratoire la formation de gley en incubant en anaérobiose totale ou partielle un sol enrichi en un substrat énergétique (glucose, par exemple). Si le sol est placé dans une colonne en verre, on voit s'y développer rapidement des taches bleu verdâtre d'aspect identique à celui des horizons de gley (BÉTRÉMIEUX, 1951). En même temps que le gley apparaît, le percolat se colore par mise en solution du fer ferreux. Les courbes de *disparition du sucre ou d'apparition du fer ferreux* en fonction du temps ont l'allure sigmoïde caractéristique de la croissance bactérienne et les deux processus présentent le maximum d'intensité au même moment. Ces résultats suggèrent une réduction du type direct (cf. p. 275).

2° Migration comparée du fer dans les podzols et les sols bruns lessivés

(cf. p. 296)

3° Genèse des cuirasses ferrugineuses en région tropicale

(cf. p. 297)

4° Genèse des concrétions ferrugineuses

Pour expliquer la genèse des concrétions ferrugineuses dans le sol, on a avancé diverses hypothèses faisant appel à des processus physiques ou physico-chimiques ou à l'action de la végétation. Mais elles ne sont pas valables dans tous les cas. Se fondant sur les travaux de GREENWOOD (1961), CRAMPTON (1962) a émis récemment une nouvelle hypothèse qui explique comme suit le concrétionnement dans certains sols. A l'intérieur des agrégats, la tension en oxygène est faible ou très faible ; la microflore s'y développe donc en anaérobiose et donne naissance à des acides organiques qui complexent le fer. Le fer ainsi solubilisé tend à diffuser vers l'extérieur de l'agrégat et ceci d'autant plus facilement que la concentration des complexes organo-ferriques à l'extérieur est faible. La précipitation a lieu à la surface extérieure de l'agrégat dès que la tension de O_2 est suffisante pour autoriser la dégradation biologique des complexes.

C. — IMPORTANCE RELATIVE DES PROCESSUS BIOLOGIQUES ET NON BIOLOGIQUES

Il est prouvé que les processus de solubilisation et de précipitation du fer peuvent être de nature biologique. Mais on est encore actuellement mal renseigné sur l'importance relative des processus chimiques et physiques d'une part, des processus biologiques d'autre part.

1° Il est probable que, *souvent, les deux types de processus coexistent* : c'est le cas de la solubilisation du fer en anaérobiose, les micro-organismes n'intervenant que pour renforcer ce processus.

2° Il est par contre des conditions dans lesquelles *les processus de nature physique ou chimique seuls interviennent* : c'est le cas de l'oxydation du Fe^{++} en Fe^{+++} dans les sols trop secs pour permettre aux micro-organismes de se multiplier ; ou de la réduction du Fe^{+++} en Fe^{++} en l'absence de matière organique.

3° Il se peut enfin que la réaction chimique soit impossible et que le processus *ne puisse avoir lieu que par l'intermédiaire des micro-organismes* : c'est le cas de l'oxydation du fer en milieu très acide.

REMARQUE : *Corrosion biologique du fer.* — La corrosion biologique du fer n'est pas le fait de Bactéries intervenant dans le cycle du fer mais des Bactéries sulfato-réductrices (cf. p. 255).

CHAPITRE VII

TRANSFORMATIONS MICROBIENNES DU POTASSIUM ET DU MANGANÈSE

A. — TRANSFORMATIONS MICROBIENNES DU POTASSIUM

Le potassium est un régulateur physiologique et un activateur enzymatique ; il intervient aussi dans la semi-perméabilité des membranes. On conçoit donc facilement qu'il joue un rôle majeur dans le développement des végétaux : c'est un des trois macro-éléments qui entrent dans la formule des engrais composés NPK.

Dans le sol le potassium existe sous les formes suivantes :

a) *Formes minérales.* — 1° Ions potassium dans la solution du sol ; 2° Ions potassium adsorbés sous forme échangeable à la surface externe des feuillets des phyllosilicates ; 3° Ions potassium fixés sur les faces internes des feuillets des phyllosilicates. Le passage de la forme échangeable à la forme fixée (ou non échangeable) est souvent désigné sous le nom de rétrogradation. Elle est fréquente chez les illites ; 4° Ions potassium intégrés dans la structure (mailles) de certains minéraux (muscovite, biotite, feldspaths, illite).

Sont facilement assimilables les formes (1°) et (2°) ; les formes (3°) et (4°) sont beaucoup plus difficilement assimilables, mais peuvent le devenir par des processus dont certains impliquent une intervention directe ou indirecte des micro-organismes.

b) *Formes organiques.* — 1° Potassium des résidus végétaux ; 2° Potassium des cellules microbiennes.

Le potassium des résidus végétaux est, pour une grande part, sous des formes facilement solubles dans l'eau (CHAMINADE, 1955) et, pour le reste (environ 1/3), sous une forme qui ne peut être assimilée qu'après minéralisation biologique.

Nous examinerons successivement les trois types de transformation biologique du potassium dans le sol :

- Solubilisation du potassium minéral non assimilable ;
- Minéralisation du potassium organique ;
- Immobilisation du potassium assimilable.

1° Solubilisation du potassium minéral non assimilable

Le potassium non assimilable peut être mobilisé suivant deux processus biologiques que nous examinerons successivement :

- altération biologique de minéraux renfermant du potassium ;
- déplacement de l'équilibre entre les formes fixées et échangeables.

a) **Altération biologique de minéraux potassiques.** — De nombreux minéraux du sol peuvent être altérés par des produits de métabolisme microbien avec libération de potassium : biotite, muscovite, glauconie, microcline, néphéline, leucite, orthoclase, etc.

1° **Micro-organismes responsables.** — Les micro-organismes responsables sont mis en évidence sur des milieux où le potassium est fourni exclusivement sous la forme d'alumino-silicates insolubles tels que la gélose silicatée d'ALEKSANDROV (TEŠIĆ et TODOROVIC, 1953). Parmi les Bactéries les mieux connues on citera *Bacillus mucilaginosus* v. *siliceus*, très facile à mettre en évidence sur milieu dépourvu d'azote où le potassium est apporté sous forme de silicate. D'après TEŠIĆ et TODOROVIC (1953), ce *Bacillus* ne fait qu'une seule et même espèce avec *B. circulans* et le *Bacille gommeux* de WINOGRADSKY. En fait, *B. mucilaginosus* v. *siliceus* appartient au groupe plus large des Bactéries dites Bactéries des silicates ou Bactéries capables de solubiliser certains éléments des silicates (potassium, silice, etc.).

Notons, en outre, que *B. mucilaginosus* est un oligonitrophile ; certaines souches pourraient même être fixatrices d'azote. L'inoculation des graines avec les Bactéries des silicates entraînerait une solubilisation nette non négligeable, dont les plantes pourraient bénéficier (ALEKSANDROV, 1958 ; PACEWICZOWA, 1962). Les Bactéries des silicates joueraient, d'après KULAI (1962), un rôle important dans la nutrition potassique de certaines espèces forestières (Pin et Bouleau) qui hébergent dans leur rhizosphère nettement plus de Bactéries des silicates que le sol non rhizosphérique. Les Champignons capables de solubiliser le potassium des silicates semblent assez nombreux ; on signalera en particulier *Aspergillus niger* étudié par ENO et REUSZER (1955).

2° **Mécanisme de l'altération des silicates.** — La solubilisation du potassium résulte de la production microbienne d'acides minéraux (carbonique, sulfurique, nitrique) ou organiques. Lorsque les produits de métabolisme présentent des propriétés complexantes (cf. p. 288), la solubilisation est encore plus active ; tel est le cas de l'acide 2-céto-glucanique synthétisé par les *Pseudomonas fluorescents* (WEBLEY et coll., 1963).

b) Déplacement de l'équilibre entre les formes fixées et échangeables. —

L'équilibre K^+ non échangeable $\xrightleftharpoons[2]{1}$ K^+ échangeable peut être déplacé dans le sens 1 lorsque la demande en potassium échangeable s'élève à la suite d'une forte activité microbienne (immobilisation). Le potassium incorporé dans les cellules microbiennes peut être ultérieurement libéré lors de la décomposition de ces cellules et ainsi mis à la disposition des plantes. Ce processus de solubilisation indirecte rappelle dans une certaine mesure la solubilisation indirecte du phosphore mise en évidence par TARDIEUX-ROCHE (cf. p. 263).

2° Minéralisation du potassium organique

Contrairement à ce qui se passe pour l'azote, le potassium des résidus végétaux est en grande partie directement soluble dans l'eau, de sorte que la minéralisation préalable des tissus, indispensable dans le cas de l'azote, ne présente pas ici le même caractère impératif. Toutefois l'on doit admettre que les micro-organismes interviennent pour minéraliser les fractions organiques renfermant du potassium à l'état combiné. Cet aspect de la minéralisation de la matière organique fraîche ne semble pas avoir fait l'objet de recherches particulières, vraisemblablement en raison de son intérêt limité sur le plan agronomique.

3° Immobilisation du potassium

Les micro-organismes peuvent utiliser pour leurs besoins une fraction plus ou moins importante du stock du sol en potassium facilement utilisable par les végétaux. Il s'agit là d'un processus d'immobilisation comparable à celui que l'on observe dans le cas de l'azote minéral.

En l'absence d'apports importants de carbone organique, l'immobilisation microbienne du potassium semble négligeable. Par contre, lorsque le sol est fortement enrichi en substrats carbonés, facilement métabolisables, sa teneur en potassium disponible pour les végétaux diminue considérablement. Mais, en pratique, il est peu probable que l'immobilisation biologique du potassium s'avère fréquemment néfaste pour les plantes.

B. — TRANSFORMATIONS MICROBIENNES DU MANGANÈSE

Dans le sol, le manganèse se trouve essentiellement sous les trois formes suivantes :

1° *Forme échangeable* : cation Mn^{++} adsorbé sur les colloïdes du sol et qui, comme tous les éléments échangeables, est susceptible de participer aux processus d'échanges réversibles avec les autres cations de la solution du sol.

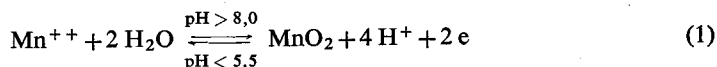
2° *Formes insolubles* constituées par les oxydes de manganèse : MnO_2 , Mn_2O_3 et Mn_3O_4 (cette formule pouvant s'écrire $\text{MnO}_2, 2 \text{MnO}$).

3° *Forme complexée* avec des substances d'origine végétale ou microbienne, la complexation du manganèse étant d'ailleurs plus facile que la complexation du fer (BÉTRÉMIEUX et HÉNIN, 1965). Ces substances complexantes sont, soit des substances humiques, soit des substances à structure plus simple, telles que des dérivés phénoliques ou des acides aliphatiques.

Les végétaux assimilent le manganèse sous sa forme bivalente (Mn^{++}) et vraisemblablement sous certaines formes plus oxydées telles que Mn_3O_4 et peut-être aussi, pour une certaine part, sous forme complexée. Les formes insolubles ne seraient pas utilisées. Lorsque la teneur du sol en manganèse bivalent devient excessive, des phénomènes de phytotoxicité apparaissent.

Dans le sol, les proportions d'ions Mn^{++} bivalent d'une part, et d'ions Mn^{++++} (MnO_2) ou Mn^{+++} (Mn_2O_3), d'autre part, sont sous la dépendance de processus chimiques ou biologiques qui coexistent mais présentent une importance relative variable suivant les cas.

Aux pH extrêmes — c'est-à-dire supérieurs à 8,0 ou inférieurs à 5,5 — ce sont surtout les phénomènes de nature chimique qui régissent la teneur relative en Mn^{++} et en Mn^{++++} :



— en dessous du pH 5,5 le manganèse est essentiellement sous forme bivalente ;

— au-dessus du pH 8,0 le manganèse s'oxyde et se présente sous forme trivalente ou tétravalente.

Dans la gamme des pH comprise entre 5,5 et 8,0, on admet que les processus de nature biologique prédominent et conditionnent, pour une bonne part, l'état d'oxydation du manganèse dans le sol (ALEXANDER, 1961). Mais on a montré récemment que des sols à pH très inférieur à 5,5 pouvaient présenter, à ce point de vue, une activité considérable : c'est le cas des sols à mull des sols bruns lessivés de l'Est de la France (VALLÉE, 1967).

Les processus d'oxydation ou de réduction biologique du manganèse dans le sol sont relativement mieux connus que les processus d'immobilisation ou de minéralisation du manganèse, ces derniers présentant, sauf exception, un intérêt agronomique mineur. Nous ne traiterons d'ailleurs ici que des processus d'oxydation et de réduction.

1° Oxydation biologique du manganèse dans le sol

a) *Mise en évidence de l'oxydation biologique du manganèse.* — La nature biologique de l'oxydation du manganèse dans le sol a été démontrée clairement par

MANN et QUASTEL (1946) qui ont utilisé, pour ce faire, la méthode de perfusion. En faisant passer à travers une colonne de sol une solution de manganèse divalent (par exemple, du sulfate de manganèse) ils ont constaté que cette solution s'appauvrit en ions Mn^{++} et que, parallèlement, la teneur en MnO_2 dans le sol augmente. Il s'agit bien d'un processus de nature biologique : 1° parce que le phénomène d'oxydation présente une phase de latence suivie d'une phase d'activité intense et régulière ; 2° parce que des inhibiteurs enzymatiques (azide de sodium à la dose de 0,001 M ; iodoacétate à la dose de 0,4 %), qui sont sans action sur les transformations chimiques, bloquent l'oxydation ; 3° parce que les réactions observées ici sont plus rapides à des concentrations faibles qu'à des concentrations élevées, alors que les réactions chimiques s'accroissent aux concentrations élevées (ALEXANDER, 1961).

Pour mettre en évidence les micro-organismes impliqués dans ces processus, on peut utiliser les milieux suivants : milieu au carbonate de manganèse de BEIJERINCK (ALEXANDER, 1961) ou, pour certains Champignons, celui de ZAVARZIN (TYLER et MARSHALL, 1967) ; milieux au sulfate de manganèse tels que ceux décrits par BROMFIELD (1956) ou MOTOMURA (1966).

b) Micro-organismes responsables. — Les micro-organismes responsables de l'oxydation appartiennent à des espèces très diverses :

1° Bactéries des genres : *Aerobacter*, *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Pseudomonas*, *Sphaerotilus*, *Hyphomicrobium* (fig. 53 et 54), *Pedomicrobium*, ce dernier genre, décrit

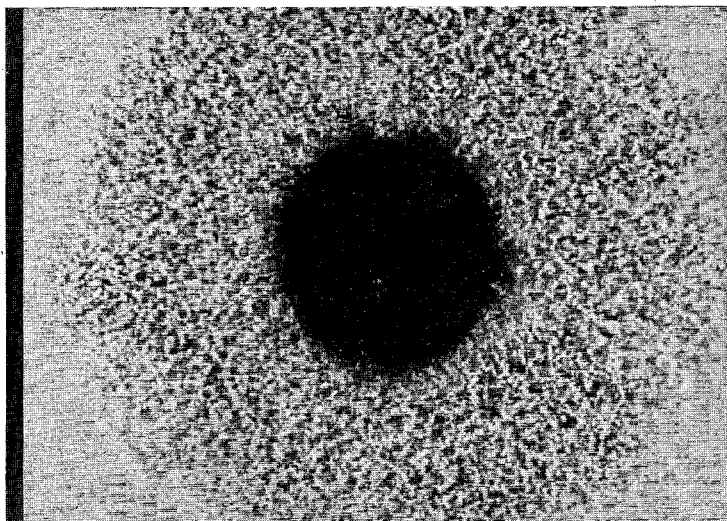


FIG. 53. — Colonie d'*Hyphomicrobium* sp. photographiée en contraste de phase. On distingue nettement la partie centrale très sombre constituée par le manganèse oxydé et les cellules microbiennes rayonnant à la périphérie (TYLER et MARSHALL, 1967).

en 1961 par ARISTOVSKAYA correspondant, semble-t-il, seulement à une forme d'*Hyphomicrobium* (fig. 55).

2° Champignons des genres : *Curvularia*, *Periconia* (TIMONIN, 1950), *Cephalosporium*, *Helminthosporium*, *Cladosporium*, *Coniothyrium*, certains de ces Champignons présentant une morphologie rappelant celle de *Metallogenium symbioticum* (TYLER et MARSHALL, 1967).

3° Actinomycètes des genres : *Nocardia*, *Streptomyces* (TIMONIN, 1950 ; BROMFIELD et SKERMAN, 1950).

Les associations de micro-organismes semblent présenter souvent une activité supérieure aux micro-organismes isolés (cf. p. 687). On notera enfin que des Bactéries impliquées dans le cycle du fer (*Leptothrix*, *Crenothrix*, *Clonothrix*) accumulent dans leurs gaines du bioxyde de manganèse (MnO_2) à côté des hydrates de fer.

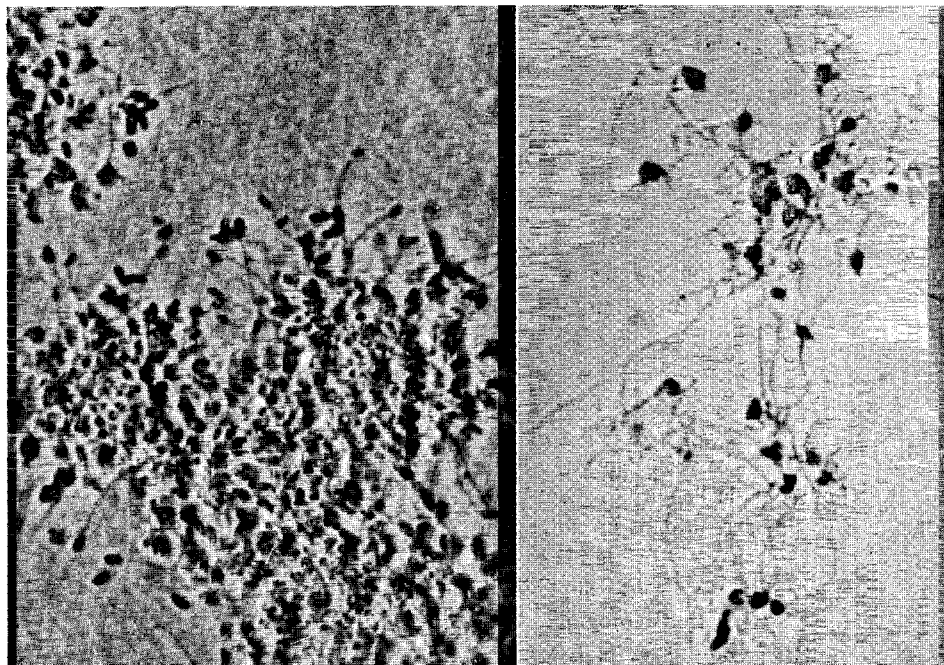


FIG. 54

FIG. 55

FIG. 54. — Aspect classique des cellules d'*Hyphomicrobium* sp. : cellules piriformes dotées de pédoncules non ramifiés (TYLER et MARSHALL, 1967).

FIG. 55. — Autre aspect des cellules d'*Hyphomicrobium* sp. : cellules bourgeonnantes dotées de pédoncules ramifiés et anastomosés. Cette morphologie rappelle celle de *Pedomicrobium* sp. ($\times 1\,500$). (TYLER et MARSHALL, 1967).

c) *Mécanismes d'oxydation biologique du manganèse.* — Parmi les processus actuellement invoqués pour expliquer l'oxydation biologique du manganèse, on citera les trois suivants :

1° *Oxydation du manganèse (Mn^{++}) par production d'hydroxyacides en milieu alcalin ou par alcalinisation d'un milieu renfermant des hydroxyacides.* — Il est démontré qu'en milieu alcalin et en présence d'hydroxyacides — acides citrique, tartrique, lactique, malique, gluconique — le manganèse réduit s'oxyde chimiquement. Ces conditions favorables à l'auto-oxydation chimique du manganèse peuvent résulter de l'activité microbienne : 1° soit que les micro-organismes synthétisent les hydroxyacides à partir d'hydrates de carbone en milieu alcalin ; 2° soit que les micro-organismes alcalinisent un milieu contenant préalablement des hydroxyacides.

Dans les deux cas l'oxydation chimique fait suite à une réaction de nature biologique : on a affaire à une oxydation biologique indirecte.

2° *Oxydation du manganèse (Mn^{++}) par les peroxydases.* — Le sol renferme des enzymes susceptibles de donner naissance à H_2O_2 qui, activé par des peroxydases, pourrait oxyder le manganèse divalent.

3° *Oxydation du manganèse (Mn^{++}) par des Bactéries chimio-lithotrophes.* — La théorie évoquée au paragraphe 1° attribue implicitement un rôle majeur aux micro-organismes chimio-organotrophes (hétérotrophes) ; mais on peut imaginer aussi qu'il existe des micro-organismes tirant l'énergie qui leur est nécessaire de l'oxydation du manganèse ; en fait, on n'a pas encore établi avec certitude leur existence et des recherches sont encore nécessaires pour approfondir cet aspect des transformations biologiques du manganèse.

d) *Facteurs écologiques régissant le processus global d'oxydation biologique du manganèse dans le sol.* — Dans le sol, les processus d'oxydation biologique du manganèse coexistent avec les processus de réduction et l'on connaît encore mal les conditions de l'environnement qui favorisent le déplacement de l'équilibre biologique dans un sens ou dans un autre. On peut cependant énoncer les quelques règles générales suivantes concernant le pH et l'effet rhizosphérique.

1° *pH.* — L'oxydation biologique du manganèse est favorisée par un pH voisin de la neutralité (pH compris entre 6,0 et 7,5). Ce processus est donc stimulé, dans les sols acides, par un chaulage modéré ou par l'application de substrats induisant une élévation de pH, tels que des amendements organiques à faible C/N. Par contre, l'application d'engrais acidifiants (sulfate d'ammoniaque, nitrate de calcium, soufre) freine ce processus.

2° *Effet rhizosphérique.* — Il est établi de façon certaine que certaines rhizosphères stimulent considérablement la microflore oxydant le manganèse. Cette stimulation

entraîne une réduction de la nutrition manganique du végétal. Suivant les cas, les conséquences peuvent en être nuisibles ou au contraire bénéfiques.

a) *Conséquences défavorables de la stimulation rhizosphérique : carence manganique.* — Un exemple classique nous est fourni par une étude de TIMONIN (1946) sur la carence manganique de l'Avoine. La carence en manganèse de cette plante est due à une activité excessive de la microflore rhizosphérique oxydant Mn^{++} , car elle disparaît par stérilisation du sol avec la chloropicrine ou le formol.

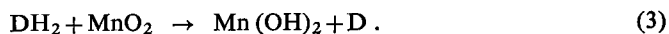
b) *Conséquences bénéfiques de la stimulation rhizosphérique : protection contre une intoxication manganique.* — La stimulation rhizosphérique de la micropopulation oxydant le manganèse peut protéger la plante contre l'effet toxique d'un excès d'ions Mn^{++} dans le sol (SWABY, 1962).

2° Réduction biologique du manganèse

En dehors de processus ne présentant aucun caractère biologique, tels que la réduction du manganèse oxydé par l'action directe de certaines fractions organiques (substances humiques, cystéine) ou minérales (sulfures), le sol est le siège de processus de réduction de nature biologique dont nous examinerons très rapidement les mécanismes et l'écologie.

a) *Mécanismes de réduction biologique du manganèse.* — On peut distinguer les trois types de mécanisme suivants :

1° **Réduction directe.** — En anaérobiose et en présence d'un substrat carboné métabolisable (DH_2), Mn^{++++} joue le rôle d'un accepteur d'électrons :



2° **Réduction indirecte par acidification.** — Il a été indiqué qu'en milieu acide le manganèse tend à être réduit. Cette réaction chimique peut être induite par une acidification d'origine biologique (cf. p. 349).

3° **Réduction directe combinée à la réduction indirecte.** — La réduction directe couplée avec la réduction indirecte résultant de l'acidification apparaît, dans le cas où *Thiobacillus thiooxidans* oxyde du soufre en présence de MnO_2 : il se forme alors une quantité de Mn^{++} supérieure à celle qui résulterait de la seule action de l'acide sulfurique formé. En effet, en plus de cette réaction de réduction indirecte, il apparaît une réaction de réduction indirecte dans laquelle Mn^{++++} sert d'accepteur d'électrons à la place de l'oxygène moléculaire.

b) Facteurs écologiques régissant la réduction biologique du manganèse dans le sol. — Les deux conditions indispensables à la réduction biologique du manganèse dans le sol sont : 1° la présence d'un substrat organique facilement métabolisable ; 2° l'absence d'oxygène. En dehors de ces deux facteurs, le pH intervient dans une certaine mesure.

1° Présence d'un substrat organique métabolisable. — Cette condition est la même que celle qui régit la réduction biologique du fer, mais l'influence favorable de la matière organique est moins nette (MANDAL, 1961).

2° Anaérobiose. — L'anaérobiose exerce un effet favorable sur la réduction du manganèse. Les sols hydromorphes seront donc en principe le siège de processus de réduction du manganèse à condition de renfermer des teneurs suffisantes en substrat carboné métabolisable.

3° pH. — Les engrais acidifiants favorisent la réduction biologique indirecte en déplaçant vers la gauche l'équilibre schématisé par la réaction (1).

REMARQUE CONCERNANT L'IMMOBILISATION MICROBIENNE DU MANGANÈSE DANS LES SOLS. — Sur le plan agronomique, l'étude de ce processus semble dénuée d'intérêt. En effet, les cellules microbiennes renfermant rarement plus de 0,005 % de cet élément, la fraction du manganèse tellurique incluse dans la biomasse microbienne est toujours très faible (ALEXANDER, 1961).

CHAPITRE VIII

LES COMPLEXES ORGANO-MÉTALLIQUES

Bien que les concepts de complexation et de chélation aient été introduits il y a plus d'un demi-siècle, c'est seulement depuis une vingtaine d'années que les spécialistes de science du sol s'intéressent aux substances complexantes et à leur rôle dans la pédogénèse et dans la nutrition végétale.

I. — RAPPEL CONCERNANT LES NOTIONS DE COMPLEXATION ET DE CHÉLATION

Presque tous les métaux — et plus particulièrement le fer, l'aluminium, le manganèse, le cuivre, le cobalt, le zinc — sont susceptibles d'être engagés dans des combinaisons particulières qui ont reçu le nom de complexes. Une catégorie de complexes revêt une importance particulière en raison de la grande stabilité des combinaisons obtenues : ce sont les *chélates*. Dans ce cas, chaque molécule complexante coordine le métal en deux ou plus de deux sites. Le complexe qui prend ainsi naissance est mononucléé ou plurinucléé et l'on réserve le nom de chélates à ces structures fermées ou cycliques. Bien souvent, on utilise indifféremment les termes complexes et chélates, bien que le premier ait une signification plus étendue ; tous les chélates sont des complexes, mais tous les complexes ne sont pas des chélates (SCHATZ et coll., 1964). Notons enfin que l'on désigne parfois sous le terme de *séquestration* la formation de complexes solubles ; mais ce mot n'a pas toujours un sens bien précis.

Le sol est riche en substances complexantes très actives. Ces substances, dont beaucoup sont encore souvent mal connues, appartiennent à des espèces chimiques très variées de poids moléculaire élevé (par exemple, acides humiques) ou plus faible (par exemple, acides aliphatiques) (MORTENSEN, 1963). Nous donnerons quelques exemples précis de substances complexantes au paragraphe suivant. Il est évident que la teneur du sol en substances complexantes est fonction de l'importance des gains (qui résultent des synthèses *in situ* et des apports) et de l'importance des pertes (essentiellement dues aux processus de lessivage et de dégradation).

Bien entendu, c'est sous l'optique du biologiste que nous aborderons ici l'étude des substances complexantes dans le sol : nous traiterons donc essentiellement des complexes d'origine microbienne et des processus de biodégradation.

II. — ORIGINE ET RÔLE DES SUBSTANCES COMPLEXANTES DANS LE SOL

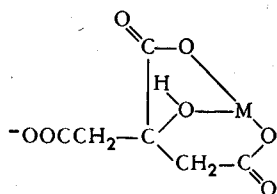
Les substances complexantes du sol ont une double origine : végétale et microbienne.

1° Substances complexantes d'origine végétale

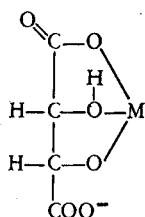
Il est impossible de passer sous silence — même dans le cadre de ce traité spécialisé — les substances complexantes d'origine végétale, en raison de leur rôle majeur dans les processus de chéluviation ; on remarquera, en outre, que ces substances complexantes peuvent être dégradées par les micro-organismes et que l'étude de leur biodégradation relève de la biologie du sol.

Les substances complexantes d'origine végétale qui sont les mieux connues sont celles qui proviennent des *débris végétaux* retournant au sol : il s'agit de *litières forestières* (cf. par exemple : LOSSAINT, 1959 ; MUIR et coll., 1964 ; JACQUIN et BRUCKERT, 1965) ou de *résidus de récolte* (BÉTRÉMIEUX, 1951) ; elles proviennent aussi des exsudations racinaires (cf. par exemple : ROVIRA, 1959) et foliaires (COULSON et coll., 1960 ; BLOOMFIELD, 1963). En dehors des acides aminés, les substances complexantes d'origine végétale les mieux connues sont essentiellement des acides dicarboxyliques (malique oxalique, succinique), des acides phénols (acide vanillique, acide parahydroxybenzoïque) ou des polyphénols (fig. 56). Les proportions des différentes substances complexantes varient beaucoup d'une espèce végétale à l'autre.

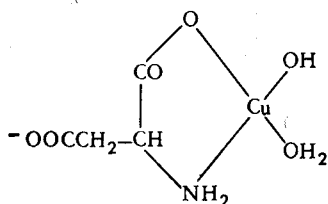
De toutes les plantes, les Lichens semblent être les producteurs les plus actifs de substances complexantes. Ces substances appartiennent au groupe des *depsides* : corps formés de deux ou trois acides orcinol ou β -orcinol-carboxylique réunis par des liaisons ester (exemple, atranorine) ; des *depsidones* : corps formés d'un cycle à sept éléments et de deux noyaux aromatiques (exemple, acide lobarique) ; ou de corps présentant une structure différente, par exemple : la parietine, qui se rattache aux anthraquinones (fig. 57). Cette aptitude à produire de grandes quantités de substances chélatantes stables confère aux Lichens un rôle de premier plan dans la colonisation des lithosols, car ils peuvent solubiliser des éléments que d'autres plantes ou des micro-organismes seraient incapables de libérer. Cette aptitude explique également leur radioactivité naturelle beaucoup plus élevée que celle des Angiospermes, Gymnospermes, Ptéridophytes et Bryophytes ; ce fait a d'ailleurs été mis à profit pour la détection de gîtes uranifères à partir d'échantillons d'herbier de Lichens (SCHATZ, 1963).



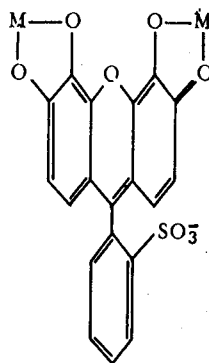
(1) Complexe métal-citrate



(2) Complexe métal-tartrate



(3) Complexe Cu-acide aspartique



(4) Complexe métal-pyrogallol

FIG. 56. — Exemples de complexes organo-métalliques. (1) et (2), chélates métal-acide organique ; (3), complexe métal-amino-acide ; (4), complexe métallo-phénolique.

2° Substances complexantes d'origine microbienne

a) **Substances complexantes d'origine microbienne sensu stricto** (substances autres que les substances humiques). — On sait que de nombreux micro-organismes produisent des substances à pouvoir complexant élevé : acides citrique, oxalique, fumarique, lactique, formique, 2-cétogluconique, glycolique et l'on a démontré leur aptitude à solubiliser, grâce à ces produits, divers éléments, dont le potassium, le calcium, le phosphore et de nombreux oligo-éléments (SWABY, 1962 ; TSYURUPA, 1964). Les micro-organismes responsables de cette activité sont des Bactéries hétérotrophes très variées, par exemple des *Pseudomonas* fluorescents producteurs d'acide 2-cétogluconique (WEBLEY et coll., 1963) ou des Bacilles (*Bacillus subtilis*, *B. sphaericus*, *B. firmus*), *Serratia marcescens*, Mycobactéries fixatrices d'azote (SUSHKINA, 1965) et parfois des Bactéries autotrophes, Bactéries pourpres photosynthétiques (SMYK et DRZAL, 1964). Les Actinomycètes peuvent aussi intervenir ainsi que les Cham-

pignons. On a pu vérifier la production d'acides organiques complexants (acides citrique, fumarique, oxalique, acétique, formique) chez des Champignons appartenant aux genres : *Aspergillus*, *Spicaria*, *Penicillium* (HENDERSON et DUFF, 1963). Quant aux Algues, ce sont des agents très actifs de l'altération des roches ou des minéraux du sol ; on sait, par exemple, que les Diatomées sont capables de décomposer de nombreuses argiles, dont la kaolinite.

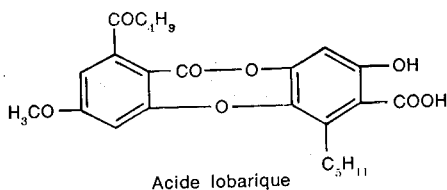
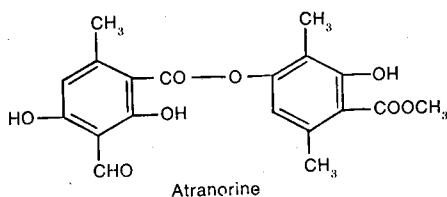
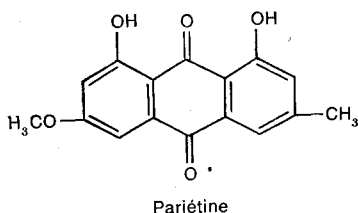


FIG. 57. — Structure de quelques acides organiques synthétisés par des Lichens et caractérisés par un pouvoir chélatant élevé.



Quels sont les facteurs écologiques les plus favorables à la synthèse des substances complexantes ?

1° Beaucoup d'auteurs admettent que l'anaérobiose ou tout au moins une semi-anaérobiose est particulièrement favorable à l'accumulation dans le sol des acides organiques complexants (BÉTRÉMIEUX, 1951 ; LOSSAINT, 1959 ; KEE et BLOOMFIELD, 1961 ; SWABY, 1962 ; BÉTRÉMIEUX et HÉNIN, 1965) ;

2° La pauvreté du sol en certains éléments minéraux et en azote (MOLLIARD, 1922) est également un facteur favorisant la production d'acides organiques dans le sol. D'après ARISTOVSKAYA (1956), cette production d'acides par les micro-organismes est un phénomène banal notamment dans les sols pauvres en Ca, K, Mg et riches en

carbone organique tels que les podzols. Bien que la biomasse des micro-organismes soit faible dans ce type pédologique, la production d'acides organiques est abondante car le rendement y est d'autant plus élevé que le complexe absorbant est moins saturé ;

3° *Une température élevée* (de l'ordre de 30 °C au moins) favorise la synthèse des substances chélatantes par les micro-organismes (LOSSAINT, 1966) ; il est donc très probable qu'en milieu tropical ces substances sont produites en plus grande quantité qu'en région tempérée ;

4° *La nature du substrat hydrocarboné* importe peu, semble-t-il. Ainsi, de très nombreux Champignons peuvent produire des acides citrique et oxalique à partir de substrats aussi divers que des polysaccharides, des hexoses, des pentoses ou des trioses ;

5° *La rhizosphère* constitue un microhabitat de choix pour les micro-organismes synthétisant l'acide 2-cétogluconique, substance très active dans la solubilisation des éléments constitutifs des phosphates et des silicates (WEBLEY et DUFF, 1965).

b) Substances humiques. — Les substances humiques résultant, au moins *pro parte*, de l'activité des micro-organismes telluriques, nous les avons classées parmi les substances complexantes d'origine microbienne. Les acides fulviques présentent un pouvoir chélatant élevé grâce à la présence de très nombreux radicaux carboxyle, hydroxyle et carbonyle fixés sur le noyau aromatique (WRIGHT et SCHNITZER, 1963). D'autres fractions humiques font également preuve de propriétés complexantes actives (KONONOVA, 1961 ; RUSSELL, 1961 ; DROZDOVA, 1963).

3° Rôle des substances complexantes : altération des roches et chéluviation

Les substances complexantes jouent un rôle important en pédogénèse :

- d'une part au cours des processus d'altération des roches ;
- d'autre part au cours des processus de migration, lorsque les complexes formés sont hydrosolubles ⁽¹⁾.

a) Altération des roches. — On sait que l'altération des roches est le fait d'agents physiques tels que la chaleur, le gel, l'érosion et d'agents chimiques (oxygène, gaz carbonique, substances complexantes). Parmi ces derniers, les substances complexantes sont les plus agressives.

Les substances d'origine végétale occupent, à ce point de vue, une place prépondérante. On a déjà signalé le cas des Lichens, dont le rôle dans l'altération des roches et des lithosols a été parfaitement démontré par SCHATZ (1963).

(1) Certains complexes, au contraire, sont insolubles ; tel est, par exemple, le cas des complexes résultant de la combinaison de l'acide phytique et des ions métalliques.

Les substances d'origine microbienne peuvent également être très efficaces ; c'est ainsi qu'en milieu stérile, l'altération de la muscovite est près de deux fois plus lente que dans un milieu ensemencé avec un inoculum mixte de *Bacillus* (*B. oligonitrophilus*, *B. mucilaginosus*, *B. salivarium*), cette accélération de l'altération étant liée à la formation de complexes de fer, aluminium, silice, calcium, magnésium à partir de produits de biosynthèse bactérienne (TSYURUPA, 1964).

Les substances humiques et notamment les acides fulviques sont bien connues pour leur agressivité élevée due à leur pouvoir complexant remarquable vis-à-vis de l'aluminium et du fer et d'autres éléments tels que le cuivre, le zinc, le nickel, le cobalt, l'uranium, le vanadium (DROZDOVA, 1963 ; SCHNITZER et SKINNER, 1965).

b) **Migration, chéluviation.** — Sur le plan pédogénétique, les complexes les plus importants sont ceux qui se forment avec les ions Fe^{++} , Fe^{+++} et Al^{+++} . Ces ions n'existent dans le sol à l'état échangeable ou soluble qu'en dessous d'un pH maximal qui est de l'ordre de 6,5 pour Fe^{++} , 5,0 pour Al^{+++} et 2,5 pour Fe^{+++} (DUCHAUFOR, 1968) ; ils ne peuvent migrer lorsque les pH dépassent ces seuils.

Par contre, une fois complexés, ils acquièrent une grande mobilité dans de larges gammes de pH. Ainsi, l'ion Fe^{+++} complexé peut fort bien migrer dans un sol de pH 5,0, alors qu'à l'état non complexé, cet ion est insoluble. On donne souvent le nom de *chéluviation* à la migration des éléments consécutive à leur complexation par analogie à la *soluviation* ou migration consécutive à leur solubilisation simple. Dans les paragraphes suivants, nous emploierons le mot migration dans son sens restreint de chéluviation.

III. — BIODÉGRADATION DES COMPLEXES ORGANO-MÉTALLIQUES

Le devenir des complexes organo-métalliques dans le sol est triple : quelle que soit leur origine, ils peuvent :

- 1° être dégradés par les micro-organismes telluriques ;
- 2° subir des transformations chimiques diverses ou être adsorbés sur les oxydes (KING et BLOOMFIELD, 1966) ou les argiles du sol (BINGHAM et coll., 1965) ;
- 3° être lessivés verticalement ou latéralement (chéluviation).

C'est exclusivement le problème de la biodégradation des complexes organo-métalliques qui sera abordé ici.

La biodégradation de la substance complexante entraîne la libération du métal séquestré et, par suite, souvent, sa précipitation, d'où l'arrêt de la migration de ce métal sous forme de chélate. Cet arrêt de la chéluviation est aussi souvent désigné sous le terme d'immobilisation. Mais il vaut mieux éviter d'employer le terme d'immobilisation dans ce sens, car il peut être confondu avec l'immobilisation, prise dans le sens

d'absorption microbienne d'un élément, telle que nous l'avons définie à propos de l'étude des transformations de l'azote, du soufre, du phosphore, etc.

Sur le plan microbiologique, on peut distinguer deux types de complexes : les complexes biodégradables et les complexes non ou peu biodégradables. La susceptibilité à la biodégradation d'un complexe organo-métallique dépend d'abord de la nature de la fraction organique complexante.

C'est ainsi que les complexes d'acide oxalique sont beaucoup plus résistants que les complexes à base d'acide citrique ; alors que les seconds sont dégradés par de nombreuses Bactéries et Actinomycètes, les premiers ne sont seulement par quelques espèces de micro-organismes dont certains Actinomycètes. La susceptibilité à la biodégradation dépend aussi de la nature de l'ion métallique complexé. Ainsi, le polysaccharide synthétisé par *Arthrobacter viscosus* est biodégradé beaucoup plus rapidement lorsqu'il complexé l'aluminium que lorsqu'il complexé le fer, le zinc ou le cuivre (MARTIN et coll., 1966) fig. 58). Il est à noter que l'ordre de classement des ions complexés en fonction de leur effet inhibiteur sur la biodégradation de la molécule complexante, tel qu'il ressort de cette expérience, peut être différent dans d'autres conditions.

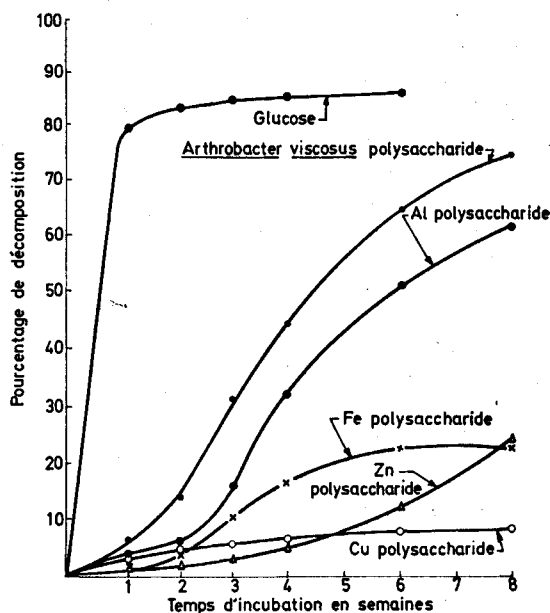


FIG. 58. — Influence de la nature de l'ion complexé sur la biodégradation d'un polysaccharide d'*Arthrobacter viscosus* (MARTIN et coll., 1966).

a) **Micro-organismes responsables.** — Les micro-organismes dégradant les complexes organo-métalliques métabolisables sont très répandus dans tous les sols. C'est ainsi que la densité des micro-organismes dégradant les complexes citrate-fer ou citrate-aluminium est de l'ordre de 10^5 à 10^6 dans de nombreux sols et peut atteindre 10^7 à 10^8 par gramme dans des sols forestiers tempérés et dans des sols ferrallitiques. Bien entendu, lorsqu'il s'agit de complexes plus résistants à la biodégradation, la densité des micro-organismes qui interviennent est bien inférieure.

La dégradation des complexes organo-métalliques est le fait de micro-organismes très variés : Bactéries essentiellement (dans le cas de complexes au citrate notamment) mais aussi Actinomycètes, Champignons et même Protozoaires.

1° Bactéries, Actinomycètes et Champignons. — Parmi les Bactéries, les genres les plus actifs sur les complexes à poids moléculaire faible sont les suivants : *Aerobacter*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Serratia*, *Corynebacterium* (CRAWFORD, 1956).

Les Actinomycètes des genres *Nocardia* et *Streptomyces*, ainsi que de nombreux Champignons filamenteux, interviennent également.

Grâce à l'emploi de nouvelles techniques (pédoscope capillaire de Gabe, milieux à base de substances humiques), ARISTOVSKAYA (1963) a mis en évidence des micro-organismes qui dégradent les complexes fer-substances humiques et dont certains accumulent activement le fer (ainsi que le manganèse) : *Pedomicrobium ferrugineum*, *P. podzolicum*, *Metallogenium* sp. Ces différents micro-organismes provoqueraient l'accumulation du fer ou du manganèse non seulement en dégradant les substances complexant ces éléments, mais aussi en oxydant les formes réduites (Fe^{++} ou Mn^{++}). Dans l'état actuel de nos connaissances, il est souvent difficile de préciser celui de ces deux processus qui est impliqué effectivement dans les phénomènes d'accumulation *in situ* (TYLER et MARSHALL, 1967).

2° Protozoaires. — De petites Amibes telluriques joueraient également un rôle important dans la dégradation des complexes à base de substances humiques (ARISTOVSKAYA, 1963).

b) Facteurs écologiques régissant la biodégradation des complexes organo-métalliques. — Comme la biodégradation des complexes organo-métalliques est le fait d'une microflore assez peu spécialisée, on peut s'attendre à ce que ce processus se manifeste dans la plupart des sols. Toutefois, lorsque les conditions de l'environnement y sont nettement défavorables, la biodégradation est fortement ralentie ou même totalement inhibée : c'est le cas des sols acides imprégnés de composés toxiques ou des sols froids (cf. *infra*).

c) Conséquences sur le plan pédologique et géologique. — La connaissance des facteurs écologiques régissant la biodégradation est très utile à la compréhension des phénomènes de migration et de précipitation des ions métalliques dans les sols. Nous en donnerons ci-dessous trois exemples.

1° Migration comparée du fer et de l'aluminium dans les podzols et les sols bruns lessivés. — Une différence fondamentale entre les podzols et les sols bruns lessivés réside dans le fait que l'entraînement du fer et de l'aluminium est très accentué dans le premier type pédologique alors qu'il est pratiquement inexistant dans le second.

a) *Dans les sols bruns*, la migration du fer et de l'aluminium est en effet fortement freinée, dès les horizons de surface, car les complexes organo-métalliques sont détruits par une microflore très active.

b) *Dans les podzols*, les complexes organo-métalliques peuvent migrer, car ils ne sont pratiquement pas biodégradés dans les horizons de surface où la microflore est fortement inhibée par les substances acides (le pH est de l'ordre de 3,5 à 4,0) et

toxiques provenant des litières de certaines espèces végétales, Conifères notamment, qualifiées de *podzolisantes*. Pour expliquer la discrétion de la biodégradation des complexes dans les podzols, on peut invoquer en outre la résistance structurale à l'attaque enzymatique de certains d'entre eux. Les complexes organo-métalliques qui migrent en profondeur atteignent l'horizon B où ils s'accumulent à la suite de processus physiques et de transformations de nature chimique et aussi de nature biologique (CRAWFORD, 1956 ; BRUCKERT et DOMMERGUES, 1968).

2° Migration des complexes organo-métalliques dans les sols à la fonte des neiges. —

A la fonte des neiges, la température du sol est de 0 °C ; à cette température, la biodégradation des complexes organo-métalliques est complètement inhibée (BRUCKERT et DOMMERGUES, 1968). Il en résulte que les complexes organo-métalliques peuvent migrer librement sans risquer d'être détruits par la microflore. Mais, lorsque la température s'élève au-dessus de 4 ou 5 °C, les processus de biodégradation interviennent à nouveau pour freiner la migration de ces complexes.

3° **Genèse des cuirasses en région tropicale.** — Par cuirasses, on entend des formations résultant de l'accumulation, dans certains horizons de sols tropicaux, d'oxydes et d'hydroxydes d'aluminium ou de fer avec souvent du manganèse et parfois du titane. La genèse de ces horizons plus ou moins indurés, comporte trois phases majeures (MAIGNIEN, 1958) :

a) *Mobilisation des sesquioxydes* à partir des sols, roches ou cuirasses fossiles situées à une distance plus ou moins grande du lieu d'accumulation. Cette mobilisation se fait :

- soit par *solubilisation* vraie (par exemple formation de bicarbonate de fer) ;
- soit par *complexation* par des molécules organiques complexantes d'origine végétale ou microbienne.

La mobilisation par complexation semble jouer, dans ce cas, un rôle prépondérant.

b) *Migration des sesquioxydes du lieu où ils sont mobilisés au lieu d'accumulation.* — Ce transfert, qui s'effectue souvent dans le sens latéral, se poursuit tant que le milieu reste favorable à la mobilité des ions et en particulier tant qu'il reste défavorable à la biodégradation des complexes organo-métalliques.

c) *Arrêt de la migration et accumulation des sesquioxydes ou cuirassement proprement dit.* — Le cuirassement résulte de l'arrêt de la migration et de l'accumulation des sesquioxydes par suite : 1° de processus chimiques ou physiques (adsorption sur les argiles, dessiccation, par exemple) ; 2° des processus biologiques, ces derniers consistant soit dans la dégradation des complexes organo-métalliques, soit dans l'oxydation des formes réduites.

CHAPITRE IX

HUMIFICATION ET DÉSHUMIFICATION

Nous avons appris en décrivant le cycle du carbone que la matière organique fraîche apportée au sol était en partie assimilée et minéralisée, fournissant ainsi à la microflore édaphique les nutriments et l'énergie nécessaires à son activité. En même temps apparaissaient à chaque étape des substances nouvelles relativement stables et que nous avons désignées sous le nom d'humus.

En conséquence, on peut définir l'humification comme la synthèse de ces substances nouvelles à partir des débris et cadavres animaux et végétaux. La déshumification est, à l'inverse, le processus au cours duquel l'humus stable est peu à peu minéralisé et utilisé pour la synthèse de nouveaux protoplastes.

Mais ces définitions apparemment simples recouvrent des notions d'une extrême complexité et reposant sur le concept d'humus, lui-même insuffisamment précis, et variable suivant les écoles.

A. — LE CONCEPT D'HUMUS

La composition de la matière organique du sol est très diverse comme le montre le tableau XLII emprunté à KONONOVA (1965) et modifié pour tenir compte des idées de HÉNIN et ses collaborateurs (1959) et de MONNIER et TURC (1964).

On voit qu'il existe une première conception de l'humus, au sens large, englobant l'ensemble de la matière organique. C'était le point de vue de WAKSMAN qui ne croyait pas à l'existence de substances humiques caractéristiques du sol. Il survit dans des expressions telles que « humus brut » et dans bien des travaux modernes où le taux d'humus dans le sol est mesuré par sa teneur en C organique.

Plus souvent on insiste aujourd'hui sur la nécessité absolue de distinguer la matière organique propre au sol, c'est-à-dire l'humus au sens strict, et les substances étrangères, incomplètement transformées et qui lui sont simplement mélangées.

TABLEAU XLII. — LES GRANDES « CLASSES » DE MATIÈRE ORGANIQUE DANS LE SOL

Matière fraîche sensu lato	E	Edaphon	Organismes vivants : microflore, microfaune, mésofaune
	M	Matière organique fraîche sensu stricto (apports) (matière organique non encore décomposée)	Feuilles mortes, tiges, brindilles (L) Résidus de récoltes Racines mortes (R) Exsudats foliaires et racinaires Cellules microbiennes mortes Cadavres animaux
	A	Matière organique non humifiée = humus libre = matière organique labile (matière organique en cours de décomposition et d'humification)	Fraction légère à C/N élevé, facilement biodégradable, pouvant être séparée des argiles par des moyens physiques (dans les horizons de surface des formations pérennes fermées — par exemple : forêts — cette fraction s'identifie pratiquement avec les litières en cours de décomposition P). L'organisation cellulaire, nette dans les résidus jeunes, a tendance à s'effacer au fur et à mesure de la progression des processus de décomposition et d'humification
Humus sensu lato	B	Matière organique humifiée = humus lié = humus sensu stricto	Fraction dense à C/N voisin de 10, résistant plus ou moins à la biodégradation, liée aux argiles et non séparable de celles-ci par des moyens physiques, comprenant : — acides fulviques, acides hymatomélaniques, acides humiques, humines A côté de l'humus lié proprement dit, le sol renferme des composés chimiquement définis (protides, glucides et dérivés, cires, tannins, etc.) résultant d'une transformation profonde des débris frais ou de resynthèses microbiennes

N. B. — Les limites entre les différentes classes sont nécessairement arbitraires : il existe bien entendu, de nombreux intermédiaires entre les classes successives.

I. — LES SUBSTANCES HUMIQUES

KONONOVA (1961) a retracé l'histoire déjà ancienne de l'humus, substance noire, liée au sol dont elle détermine la fertilité. Les chimistes du début du XIX^e siècle ont essayé de l'analyser et d'en donner des formules. Pour cela, ils traitaient le sol par des solutions alcalines, obtenant ainsi une liqueur noire précipitant en partie par acidification.

On peut ainsi reconnaître trois ou quatre fractions humiques :

- les acides fulviques extractibles et demeurant dissous ou dispersés après acidification ;
- les acides humiques extractibles mais précipitant à pH 1 et dont la fraction soluble dans l'éthanol est désignée sous le nom d'acides hymatomélaniques ;
- l'humine, résidu non extractible.

Ce fractionnement reste valable aujourd'hui ; mais on tend à remplacer les solutions alcalines qui provoquent une humification artificielle par des agents complexants permettant de travailler en milieu neutre ou acide.

Nous ne nous étendons pas sur ces problèmes de technique exposés dans le précis de DUCHAUFOUR (1965).

On retiendra seulement que :

- la notion de substances humiques est essentiellement chimique et ne repose pas directement sur les rôles écologiques et pédogénétiques de l'humus ;
- les fractions non humiques sont soumises à l'extraction en même temps que le sol et contribuent ainsi à fournir des substances « humiques » ;
- l'humine est un résidu hétérogène comprenant, outre une partie non dispersable de l'humus, les cadavres de l'édaphon et les débris organisés.

II. — HUMUS LIBRE ET HUMUS LIÉ

On peut obtenir une meilleure séparation de la fraction humique en soumettant le sol à un prétraitement physique destiné à séparer les substances incomplètement transformées.

On a alors recours au tamisage, à la dispersion par les ultra-sons ou, ce qui semble meilleur, à la flottaison sur des liquides organiques denses (HÉNIN et coll., 1959).

On reconnaît ainsi une fraction légère (F_l) ou « humus libre » et une fraction dense (F_d) ou « humus lié », fixé sur les constituants minéraux.

L'humus libre est, en principe, labile et se transforme peu à peu au cours de l'humification en produits de poids moléculaires modérés dont une partie, en s'unissant aux argiles, donne naissance à l'humus lié stable.

Une telle distinction est plus intéressante pour l'écologiste puisqu'elle renseigne dans une certaine mesure sur la vitesse de transformation des débris organiques et sur l'intensité des synthèses humiques.

III. — LE CONCEPT FONCTIONNEL DE L'HUMUS

La quantité et la nature des matières organiques présentes dans le sol déterminent, pour une large part, les caractéristiques de celui-ci et conditionnent sa fertilité.

Il n'est pas possible d'étudier ici, en détail, les nombreuses fonctions écologiques, pédogénétiques et physiologiques qu'elles remplissent (voir à ce sujet l'ouvrage fondamental de KONONOVA, 1961 ; la revue de CHAMINADE, 1966 ; PRAT et RYPAČEK, 1962, etc.), mais il est nécessaire d'en signaler les principaux aspects.

1° Il existe, dans le sol, un « pool organique » comprenant les fragments semi-transformés et des substances humiques vraies. A son niveau, une partie des éléments, surtout N et C, mais aussi P et S, se trouvent détournés des voies du turnover normal. L'humus au sens large apparaît ainsi comme un réservoir régularisant les cycles biogéochimiques, mais aussi susceptible d'entraver leur déroulement.

Par exemple, 1 à 3 % de l'N organique du sol sont, en général, minéralisés chaque année, assurant ainsi une alimentation convenable des végétaux supérieurs. Si ces phénomènes de minéralisation sont entravés par la formation de complexes trop stables, la fertilité du sol diminue et ceci est lié à une dégradation progressive de la végétation.

2° Au cours de la décomposition des débris organiques, se forment des substances colloïdales, telles que polyosides et composés humiques qui jouent un rôle important dans l'établissement de la structure et de sa stabilité (cf. ch. XIII).

Elles contribuent encore à déterminer la capacité d'échange du sol et maintiennent ainsi les cations sous une forme échangeable, disponible pour les végétaux supérieurs ; elles participent à l'établissement du pH et du pouvoir tampon.

3° A partir des débris organiques frais (BLOOMFIELD, 1965) et en cours de dégradation (KONONOVA, 1965) mais aussi lors de la déshumification (JACQUIN, 1963a), apparaissent de petites molécules mobiles dont les activités sont d'une grande importance.

Elles interviennent dans la pédogénèse en participant à l'altération de la roche mère ; elles sont susceptibles de complexer et de solubiliser les bases du sol avec, pour conséquence, lessivage et podzolisation.

Elles ont un effet stimulant sur la physiologie des végétaux supérieurs et notamment sur la rhizogenèse et la nutrition minérale ; elles peuvent contrebalancer les effets nuisibles d'un excès d'N ou de substances toxiques excrétées par certaines plantes. Elles modifient les activités enzymatiques des végétaux supérieurs.

CONCLUSION. — Nous venons de voir que les différentes fonctions de la matière organique du sol étaient assurées à la fois par les fractions non humifiées et les substances humiques.

La prépondérance des premières, dans un sol, correspond, sans doute, à une activité biologique réduite ; elle conduit à la constitution d'une sorte d'épargne gelée et à l'apparition de substances agressives dégradant le sol.

L'humus vrai correspond plutôt à des sols de bonne structure, d'activité intense et à un turnover équilibré. Mais il y a aussi des humus inertes et des substances humiques mobiles. Du point de vue écologique, la distinction entre les deux catégories n'est donc pas absolument tranchée.

Elle ne l'est pas non plus du point de vue chimique. L'humus vrai comprend des substances définies et labiles (glucides et protides), mais ces dernières sont stabilisées dans le sol par leur association à certaines argiles (montmorillonite) ou par incorporation au sein des agrégats (GREENLAND, 1965 ; EDWARDS, 1966 ; MAYAUDON, 1966). Or, elles peuvent aussi être protégées dans les tissus non humifiés ; c'est par exemple le cas des complexes tannin-protéine dont la stabilité, du moins en milieu acide, est démontrée (BASARABA et STARKEY, 1966). On trouve aussi dans les deux groupes des substances récalcitrantes analogues (cires, tannins, lignine).

On sait depuis longtemps, dès les travaux de TRUSOV en 1914 selon KONONOVA, 1961, que des substances apparentées à l'humus par leur composition chimique comme par leurs fonctions se forment très vite, même en dehors du sol, dans les débris organiques frais : on les considère comme des composés préhumiques (PROCH, 1961) et certains les qualifient même d'« acides humiques végétaux » (KLEINHEMPEL, 1967).

Etant donné les difficultés que l'on rencontre pour séparer valablement et rigoureusement les fractions humifiées et non, on se contente, dans la pratique, de représenter le taux d'humification par le rapport entre le C des substances humiques extractibles par un agent aussi doux que possible et le C total du sol considéré. Un fractionnement gravimétrique préalable permettrait en plus de distinguer les substances humiques liées aux colloïdes minéraux des substances préhumiques appartenant à la fraction légère (GREENLAND, 1965).

B. — APERÇU CHIMIQUE

Les substances humiques sont des produits extrêmement complexes qu'il est difficile d'extraire du sol sans que leur molécule en soit modifiée et sans provoquer une humification artificielle.

Leur fractionnement ne conduit jamais à des substances pures : ni la précipitation fractionnée, ni les différentes techniques chromatographiques, ni l'électrophorèse, ni la filtration sur gel ne fournissent mieux que des catégories de corps de mobilité ou de poids moléculaires semblables, mais dont aucune n'est homogène des points de vue

chimique et physique. Peut-être même n'existe-t-il pas deux molécules humiques identiques (DUBACH et MEHTA, 1963).

Les différentes catégories ne se correspondent pas tout à fait d'une méthode à l'autre et semblent reliées entre elles par une série continue d'intermédiaires. Par exemple, les acides humiques bruns paraissent se rapprocher, à certains points de vue, des acides fulviques ou des substances préhumiques et se relient aussi aux acides humiques gris qui font peut-être passage à l'humine.

Bien plus, une fraction isolée par une méthode donnée apparaît hétérogène par cette même méthode si elle a été simplement desséchée entre-temps, comme si la dessiccation suffisait à modifier la structure des particules (BURGES, 1960b).

Comment caractériser de telles fractions et comment pénétrer plus avant dans la chimie complexe de ces produits variables et colloïdaux ?

De nombreuses méthodes ont été utilisées : analyse élémentaire, coagulation par les électrolytes, spectres d'absorption dans le visible, l'UV et l'IR, spectres de diffraction aux rayons X, résonance paramagnétique électronique, sédimentation, analyse des groupements fonctionnels, détermination des poids équivalents, des masses « moléculaires ».

Les données ainsi obtenues ont permis de se faire une idée incomplète et peut-être provisoire, mais généralement acceptée aujourd'hui, de la nature chimique des substances humiques.

I. — LA CONCEPTION CLASSIQUE

Les substances humiques sont riches en C (45 à 65 %), en O (30 à 40 %) localisé, en partie, dans des groupements fonctionnels OCH_3 , OH phénolique et COOH . On rencontre un peu d'N (2 à 6 %), de très petites quantités de P et de S organiques et enfin des cendres.

L'hydrolyse acide des substances humiques en libère des acides aminés et souvent aussi des sucres et des aminosucres. Il reste alors une fraction non hydrolysable, un peu comme la lignine, que l'on interprète comme le squelette ou « nucléus » caractéristique de ces molécules.

Celui-ci peut être fragmenté grâce à des méthodes brutales : pyrolyse, hydrolyse ou fusion alcalines, action des réducteurs (amalgame de Na) ou des oxydants (KMnO_4 , H_2O_2 , HNO_3). Si l'attaque est assez poussée, on n'obtient que CO_2 et des acides aliphatiques. Si elle est plus ménagée, on peut mettre en évidence une petite quantité de produits aromatiques (DUBACH et coll., 1963).

Comme les spectres IR indiquent eux aussi la présence de noyaux benzéniques, on admet généralement l'hypothèse suivante (KASATOCHKIN et coll., 1964).

Les substances humiques répondent toutes à un même type général comportant un « nucléus » en grande partie de nature aromatique et portant des chaînes latérales.

Des substances très variées peuvent répondre à ce type tout en présentant entre elles des différences portant sur :

— l'importance du nucléus, la nature des unités qui le constituent, leur disposition, leur mode de liaison ;

— la composition des chaînes latérales et des groupements fonctionnels.

Dans les acides fulviques, le taux de C est relativement faible, l'oxygène assez abondant appartient à des groupements fonctionnels responsables de l'acidité marquée de ces composés. On peut penser que leur molécule relativement petite a un noyau peu développé et des chaînes latérales nombreuses.

Dans les acides humiques, c'est l'inverse, le noyau est prépondérant et les chaînes réduites ; la molécule plus condensée, plus volumineuse, est riche en C, moins riche en O et celui-ci paraît exister en partie dans le noyau sous une forme non réactive (liaisons éther ou peut-être hétérocycles oxygénés).

Quant à l'humine, elle est évidemment moins bien connue, mais on pense qu'elle est encore plus condensée que les acides humiques et son insolubilité pourrait s'expliquer par ce fait comme aussi par sa liaison plus intime avec la fraction minérale du sol.

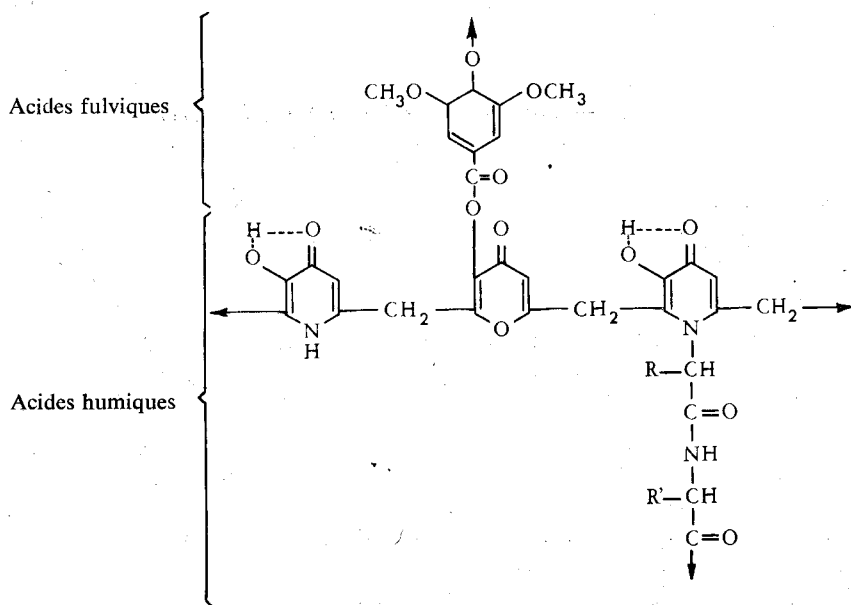


FIG. 59. — Hypothèse de FELBECK (1965) concernant la nature des acides fulviques et humiques.

Mais ces conceptions ne sont pas des certitudes. Pour FELBECK (1965), seuls les acides fulviques répondent à la description précédente, alors que le squelette des autres fractions serait caractérisé par la présence d'hétérocycles oxygénés et probablement aussi azotés (fig. 59). On s'est même demandé si le nucléus aromatique n'était pas un simple artefact (DEUEL et coll., 1960).

II. — « MATURATION » DES SUBSTANCES HUMIQUES

Dans la théorie classique, les différentes catégories de substances humiques sont reliées entre elles par des intermédiaires continus. Dans la théorie de KONONOVA (1961), les produits les moins condensés sont aussi les plus « jeunes » et peuvent se transformer par une maturation progressive en substances plus « évoluées » de sorte que l'humine représenterait le terme final du processus. Mais certains faits contredisent ce point de vue : les différents types de substances humiques, des plus « jeunes » jusqu'aux plus « mûres » peuvent se former simultanément. Si, par exemple, on ajoute à un sol un extrait aqueux de Trèfle marqué, une partie du ^{14}C se retrouve dix jours plus tard dans l'humine. De plus, l'incubation des acides humiques en présence de micro-organismes fait apparaître des produits moins condensés (acides fulviques et hymatomélaniques) alors que, dans ces mêmes conditions, les acides fulviques ne donnent pas d'acides humiques (MISHUSTIN et coll., 1964).

Le datage par le carbone radioactif permet d'attribuer aux fractions peu condensées un âge moyen de 50 à 250 ans, à l'humine quelque 2 000 ans. Enfin, dans des conditions climatiques extrêmes, des humus fossiles subsistent depuis quelque 5 000 ans. Mais la vieillesse moyenne de l'humine peut s'expliquer aussi bien par sa récalcitrance à la biodégradation que par une lente maturation, comme l'âge moyen d'une population dépend de la longévité de ses habitants.

C. — BIOCHIMIE DE L'HUMIFICATION

On avait cru autrefois que l'humification était la conséquence de processus chimiques, abiotiques, consistant en une oxydation directe de la cellulose ou en une condensation immédiate de la lignine avec des substances protéiques pour former des complexes ligno-protéines. Aujourd'hui on pense que l'humification résulte essentiellement de phénomènes biologiques variés faisant intervenir des oxydases microbiennes et peut-être aussi végétales ; mais ceci n'exclut pas l'intervention de facteurs physiques ou chimiques sans lesquels, semble-t-il, le phénomène ne conduit qu'à une « maturation » incomplète de l'humus.

Les substances humiques étant des polycondensats de teinte sombre, leurs mécanismes de formation évoquent les phénomènes qui interviennent lors de l'oxydation des phénols ou du séchage et de la stérilisation des aliments et qui conduisent eux aussi à des substances brunes. Mais les réactions de brunissement sont l'un des domaines les

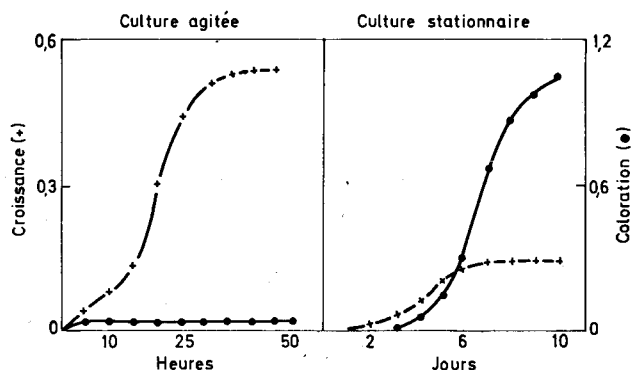


FIG. 60. — Croissance et production de « mélanine » par *Micrococcus varians* sur milieu au phénol (JAYASANKAR et BHAT, 1966).

+ — + — : croissance.
• — • — : coloration.

plus complexes et les plus mal connus de la chimie organique et nous nous contenterons d'esquisser les principales hypothèses qui visent à expliquer les synthèses humiques, renvoyant le lecteur, pour plus de précisions, à la mise au point de BREMNER (1967).

I. — OXYDATION DES PHÉNOLS

Les phénols sont des composés relativement instables, susceptibles d'être dégradés avec ouverture du cycle aromatique sous l'influence de nombreux micro-organismes telluriques (cf. p. 134) ; ils peuvent d'autre part être oxydés avec formation de quinones ou de radicaux libres. Les deux processus de dégradation et d'oxydation ne s'excluent d'ailleurs pas et l'un ou l'autre peut être assuré par une même espèce bactérienne suivant les conditions du milieu (JAYASANKAR et BHAT, 1966). La figure 60 montre comment, en culture stationnaire, c'est le processus de condensation oxydative avec production de « mélanine » qui l'emporte, tandis que la croissance est maximale et la production de pigment négligeable en culture agitée.

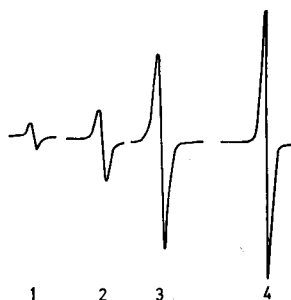
L'oxydation des phénols est plus ou moins facile et rapide suivant la nature du

composé considéré. Elle intervient surtout en milieu basique mais éventuellement dès pH 7 et peut être catalysée par des ions métalliques (Fe^{+++} , Cu^{++}). Elle peut d'autre part être assurée, en milieu acide ou neutre, par des phénolases ou par certaines oxydases moins spécifiques ; enfin elle peut se produire à la fois par voie chimique et enzymatique dans des conditions faiblement alcalines.

Les oxydases susceptibles d'utiliser les phénols comme substrats sont largement répandues chez les végétaux supérieurs et les micro-organismes : Champignons, Actinomycètes et même Bactéries. On est donc en droit de penser que les phénols sont assez rapidement transformés dans le sol et même dès avant l'incorporation à ce dernier des cadavres et exsudats végétaux. C'est ce que laisse supposer la formation des solutions brunes que l'on voit s'écouler des litières ou des herbes en décomposition. Il en résulte que le sol contient peu de phénols libres (JACQUIN et BRUCKERT, 1965) bien que les faibles quantités présentes soient peut-être capables d'exercer une influence réelle sur l'activité biologique totale (cf. p. 301) et sur la croissance des végétaux supérieurs (HENNÉQUIN et JUSTE, 1967).

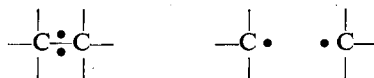
Les mécanismes de la condensation oxydative des phénols sont complexes et font intervenir probablement des radicaux libres stables. Ces derniers ont été mis en évidence (cf. par exemple, STEELINK, 1964 ; KLEIST et MÜCKE, 1966) dans les substances modèles comme dans les acides humiques naturels où ils sont d'autant plus nombreux que le produit est plus condensé (fig. 61).

FIG. 61. — Signaux de résonance paramagnétique électronique de divers acides humiques. 1, acides humiques solubles ; 2, acides humiques bruns ; 3, acides humiques gris ; 4, acides humiques artificiels formés dans une culture de *Cephalosporium gordonii* (KLEIST et MÜCKE, 1966).



SCHAEFFER et ZIECHMANN (1967) ont souligné le fait que l'intervention de radicaux libres explique, mieux que tout autre mécanisme, les propriétés des substances humiques.

Les radicaux libres résultent de la dissociation d'une liaison ou de la capture d'un électron de sorte qu'apparaît sur un (ou plusieurs) atome de la molécule un électron impair dont la présence est décelable, en particulier, par le caractère paramagnétique qu'elle confère au radical.



Mais pour pouvoir être impliqué dans les réactions progressives de l'humification, il faut que celui-ci ait une durée de vie suffisante ; c'est le cas notamment lorsqu'il dérive

des substances aromatiques. Ces dernières offrent, en effet, en raison de leur structure particulière, des possibilités de mésomérie qui tendent à délocaliser l'électron et, par conséquent, à stabiliser le radical.

On obtient ainsi, à partir de molécules identiques, des radicaux variés dans lesquels l'électron impair peut se rencontrer sur l'oxygène ou le carbone.

Ceci explique comment les structures humiques ne sont pas comparables à des molécules comportant répétition régulière de maillons élémentaires identiques, unis entre eux en des points et suivant des modes de liaison uniformes. Ce sont au contraire des systèmes réticulés tridimensionnels de structures chimiques très variables et susceptibles de s'accroître par liaison avec d'autres unités réactives. Quand leurs dimensions augmentent, les possibilités de mésomérie sont de plus en plus grandes et entraînent leur stabilisation et la diminution de leur réactivité.

Nous rencontrons ici des phénomènes que nous avons déjà entrevus en étudiant la lignine ; mais la diversité des substances humiques est très supérieure, car les unités aromatiques disponibles sont plus variées et proviennent non seulement des végétaux supérieurs mais aussi des micro-organismes. De plus, des fractions non aromatiques très diverses peuvent être impliquées dans les phénomènes de condensation comme le laisse entrevoir le schéma simple de la figure 62.

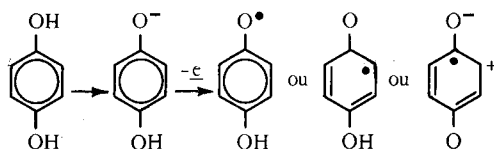


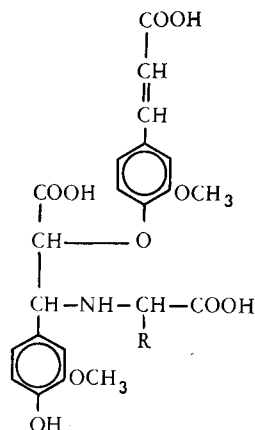
FIG. 62. — Formation de radicaux libres à partir de l'hydroquinone (selon SCHEFFER et ZIECHMANN, 1967).

II. — RÉACTIONS ENTRE LES PHÉNOLS OU LEURS PRODUITS D'OXYDATION ET DES GROUPEMENTS $-NH_2$ OU $-SH$

a) *La synthèse des substances modèles* est accélérée en présence d'acides aminés, de polypeptides ou de protéines et, d'ailleurs, dans la nature, les débris végétaux les plus riches en N sont aussi ceux qui fournissent le plus vite des substances humiques évoluées.

On admet donc que, dans le sol, se forment des composés mixtes résultant de l'union des phénols ou plutôt de leurs dérivés d'oxydation avec des corps portant des groupements $-NH_2$ ou $-SH$. L'N ou le S pourraient ainsi établir la liaison entre les noyaux aromatiques ; les acides diaminés ou les acides aminés soufrés permettraient

FIG. 63. — Condensation de deux molécules d'acide férulique et d'une molécule d'acide aminé (FLAIG, 1966).



la formation des complexes tridimensionnels. Les réactions éventuelles ont été envisagées par FLAIG (1964b) et HAIDER et ses collaborateurs (1965) (fig. 63).

b) L'azote de l'humus. — En fait nous sommes encore mal renseignés sur l'état de l'N dans les « molécules » d'humus.

Une fraction plus ou moins importante (20 à 50 %) en est hydrolysable sans altération du nucléus de sorte qu'elle correspond, sans doute, à des chaînes latérales. Le reste pourrait être représenté, en partie, par l'N des liaisons N-phényle (LADD et BUTLER, 1966) ou par des hétérocycles azotés (FLAIG et BREYHAN, 1956) car les uns et les autres résistent à l'hydrolyse.

On peut donc émettre les hypothèses suivantes :

1° Les réactions de condensation intéresseraient des composés aromatiques et des substances aminées. S'agit-il d'acides aminés, de polypeptides ou de protéines ?

La dernière de ces alternatives a été souvent rejetée, car les réactions des protéines ne se retrouvent pas dans les substances humiques (SWABY et LADD, 1962), mais elles peuvent y être simplement masquées comme dans d'autres complexes avec la lignine ou les composés phénoliques (LADD et BUTLER, 1966).

Aujourd'hui, on est moins affirmatif parce que les substances modèles obtenues à partir d'acides aminés sont moins semblables aux produits naturels que celles où entrent des protéines (LADD et BUTLER, 1966). En présence de globulines, la synthèse de produits humiques est plus importante que dans le cas d'acides aminés, mais ces derniers sont inégalement incorporés lors de la condensation : la phénylalanine ou la leucine, par exemple, le sont beaucoup plus que l'alanine ou la glycine (MAYAUDON, 1968). Enfin SIMONART et ses collaborateurs (1967) ont extrait de certains acides humiques naturels une fraction protéique.

2° Les hétérocycles azotés pourraient se former par simple réaction chimique à partir d'ammoniac et de produits résultant de l'ouverture des noyaux benzéniques sous l'influence des oxygénases microbiennes (BREMNER, 1965).

3° Des réactions pourraient aussi intervenir entre composés phénoliques et ammoniac, car elles conduisent à des dérivés aminés.

Il faut retenir surtout que l'N de l'humus se trouve, en partie, sous une forme relativement mobilisable (acides aminés, amino-sucres) et, peut-être, étrangère à la structure fondamentale des substances humiques. Une autre fraction, plus stable, participe à cette dernière ou bien se trouve protégée, par exemple, grâce à des effets stériques au sein de la molécule. Elle correspond, selon HAIDER et ses collaborateurs (1965) au groupement N terminal des chaînes peptidiques.

Enfin pour DUBACH et MEHTA (1963), l'N n'est pas un élément constitutif des substances humiques car on peut isoler de l'horizon B d'un podzol des produits qui n'en contiennent pas.

Les réactions thiol-quinone sont encore plus faciles que celles impliquant les acides aminés. Elles expliqueraient, en partie, la teneur en S de certains composés humiques.

III. — LA RÉACTION DE MAILLARD

Cet auteur a montré au début du siècle qu'il était possible de préparer *in vitro* des substances brunes ressemblant à l'humus en faisant réagir entre eux des acides aminés et des sucres réducteurs. Les produits ainsi obtenus sont appelés des « mélanoidines » et leur structure est mal connue, tout comme les mécanismes chimiques qui leur donnent naissance (HODGE, 1953 ; ELLIS, 1959).

La théorie de MAILLARD a eu peu de succès auprès des pédologues et a plutôt été envisagée dans le cadre des altérations de produits alimentaires car elle est rapide seulement dans des conditions non biologiques : température et pH élevés, état semi-hydraté. Dans le sol, pense-t-on, elle ne pourrait être que lente et, comme elle intéresse des substances très labiles, il est probable qu'elle est négligeable.

Mais c'est oublier que ces réactions complexes sont très sensibles aux facteurs physiques et plus ou moins faciles suivant les substances en présence.

Ainsi la glycine accélère le brunissement ; certains aldéhydes sont beaucoup plus réactifs que les sucres : c'est le cas du furfural et du méthylglyoxal. Or ce dernier est produit au cours de l'autolyse des micro-organismes et a été mis en évidence dans les sols où l'humification est très active (ENDERS et SIGURDSON, 1947) ; il n'est donc pas exclu qu'il participe à son déroulement.

Les réductones naturelles (acide ascorbique, polyphénols) ou formées au cours de réactions de MAILLARD pourraient aussi être impliquées dans les réactions de brunissement et les favoriser.

Enfin, plus récemment, KING et BLOOMFIELD (1966) envisagent la possibilité de condensations sucres-composés aminés en présence d'hydroxyde ferrique divisé.

Il n'en reste pas moins que ces processus ont été rarement pris en considération pour expliquer la formation des substances humiques, bien que STEVENSON (1960) envisage leur participation à la synthèse des acides fulviques. Enfin la structure proposée par FELBECK (cf. *supra*) pour les acides humiques pourrait les faire dériver des glucides (BREMNER, 1967).

D. — LES MATIÈRES PREMIÈRES

Nous venons d'entrevoir quelles réactions pouvaient conduire à la synthèse des substances humiques ; d'où proviennent les substances qui s'y trouvent impliquées ?

I. — LES CONSTITUANTS AZOTÉS

Il semble que les protides des débris frais, végétaux ou animaux, soient assez rapidement détruits au cours de la décomposition de ces résidus (KUO et BARTHOLOMEW, 1965). Leur intervention ne pourrait donc être envisagée que dans le cas des substances préhumiques formées chez la plante sénescence ou au moment de sa mort. On pense plutôt que la fraction azotée de l'humus est fournie par les micro-organismes : ceci repose, en particulier, sur la présence, dans les hydrolysats d'acides humiques, d'acides aminés étrangers aux protéines mais présents dans les parois bactériennes, comme l'acide α - ϵ -diaminopimélique et peut-être des acides D-aminés. Les amino-sucres ont aussi probablement une origine microbienne (chitine des Champignons, mucopolysides bactériens) ou animale.

Quelle que soit leur provenance, ces constituants azotés sont très labiles à l'état libre ; de plus, ils sont susceptibles d'être adsorbés sur certaines argiles de sorte que leur réaction avec les autres constituants de l'humus devrait être rapide et se situer, peut-être, au niveau de la cellule moribonde (SWABY et LADD, 1962).

II. — LA LIGNINE

Nous connaissons son abondance dans les débris végétaux, sa résistance apparente aux actions microbiennes, son aptitude à former des complexes sombres par oxydation en présence de composés azotés.

Ces remarques ont donné naissance à la théorie des ligno-protéines dont WAKSMAN est le plus illustre défenseur : la lignine, à peu près intacte, s'unit à des composés protidiques. Elle fut le dogme des années 50, puis elle a été critiquée, en partie en raison du doute planant sur la présence de protéines dans les substances humiques. JENKINSON et TINSLEY (1960) ont bien obtenu de tels complexes à partir de composts, mais le produit isolé du sol, dans les mêmes conditions, ne se reliait pas de façon évidente à la lignine.

On a aussi envisagé les réactions de cette substance avec des acides aminés ou l'ammoniac.

Mais, pour comprendre les possibilités de sa participation aux synthèses humiques, il faut se souvenir des modalités de sa dégradation dans la nature.

a) Dans un premier cas, en présence de populations complexes attaquant les glucides pariétaux, la lignine libérée subit des altérations partielles, portant sur ses groupements fonctionnels (diminution du taux de méthoxyle, enrichissement en groupements carboxyle, carboxyle et OH phénolique) (BROADBENT, 1954 ; FLAIG et coll., 1959, etc.) et sur l'incorporation d'azote sous une forme non hydrolysable (tableau XLIII).

TABLEAU XLIII. — EVOLUTIONS DE LA LIGNINE ET DES ACIDES HUMIQUES
DANS UNE PAILLE DE BLÉ EN DÉCOMPOSITION
(selon FLAIG et coll., 1959)

NOMBRE DE JOURS	C %	O %	N % <i>avant hydrolyse</i>	N % <i>après hydrolyse</i>	N-NH ₂ <i>hydroly- sable (a)</i>	N NON HYDROLYSABLE <i>N-NH₃ autre</i>	
LIGNINE							
0	61,2	32,7	0,55	0,22	58	100	0
260	60,4	31,2	3,3	1,4	21	40	60
340	57,2	33,4	3,2	1,7	20	49	51
ACIDES HUMIQUES							
260	53,7	37,6	3,44	0,95	21	54	46
340	52,9	38,9	2,94	0,96	17	67	33

(a) En % de l'N total à 0 jours.

En même temps, les caractères du produit se rapprochent de ceux de l'humus : la capacité d'échange, la solubilité dans la soude diluée, l'aptitude à flocculer en présence de Ca⁺⁺ augmentent (MANGENOT et JACQUIN, 1960) ; les spectres d'absorption, notamment dans l'IR, deviennent plus semblables (ZIECHMANN et PAWELKE, 1959 ; JOHNSTON, 1964). Enfin JOHNSTON remarque l'existence d'un certain parallélisme entre les teneurs en OCH₃ de la lignine de Maïs et de Luzerne et celles des humus formés lors de la décomposition de ces plantes, ce qui semble prouver la parenté existant entre ces deux catégories de produits.

b) En présence de Champignons lignivores, la lignine est fragmentée, et les phénols simples libérés peuvent, ou bien être métabolisés avec ouverture du cycle, ou bien se condenser sous l'influence d'oxydases microbiennes en donnant des produits colorés (JACQUIN, 1963a ; FLAIG, 1964b). Les polyphénols méthoxylés fourniraient des complexes pâles sans N, les autres conduiraient à des produits sombres, azotés, analogues aux acides humiques. Cette différence de comportement a été contrôlée, *in vitro*, par HAIDER et ses collaborateurs (1965).

On peut se demander quelles sont les importances respectives de ces deux voies pour la synthèse des substances humiques. MAYAUDON et SIMONART (1959) ont suivi le sort de la cellulose et de la lignine dans les tissus d'une plante marquée par le ^{14}C et attaquée par des populations telluriques complexes ; après un mois, 70 % de la radio-activité de la lignine subsistent et se retrouvent surtout dans les fractions acides humiques et humine. Mais le nucléus ne contiendrait pas de ^{14}C ou en renfermerait très peu.

FARMER et MORRISON (1964) étudient la distribution des aldéhydes aromatiques dans la tourbe de *Phragmites* ainsi que les spectres IR de ses acides humiques : ceux-ci résultent, en partie, de l'altération de la lignine par déméthoxylation et oxydation, mais contiennent encore une certaine proportion de produits très proches de la lignine initiale.

TICHY (1962) admet l'accumulation de composés humiques dans un bois attaqué par des Basidiomycètes de pourriture brune qui ne fragmentent pas la lignine, alors que ceux des pourritures blanches ne fourniraient pas de substances humiques. Les conclusions de JACQUIN (1963a) sont plus nuancées et semblent indiquer la formation, en présence de populations mixtes, d'une quantité limitée d'acides humiques assez condensés, accompagnés d'une fraction mobile à l'électrophorèse et présentant la fluorescence violette de la lignine. En présence d'un Basidiomycète lignivore apparaît, au contraire, une grande quantité de substances hydrosolubles, comprenant les aldéhydes phénols dérivés de la lignine et des produits humiques pâles et faiblement condensés, principalement des acides fulviques ou des substances proches de ceux-ci.

Chez les Bryophytes, la plupart des auteurs sont d'accord pour estimer que la lignine est absente, si ce n'est peut-être au niveau du minuscule sporophyte. Elle est remplacée par des composés mal connus, dont une fraction a reçu le nom de sphagnol. Ce sont des substances solubles mais apparemment liées aux parois et libérées lorsque ces dernières sont détruites : l'hydrolyse acide permet ainsi de les isoler sous une forme plus ou moins altérée. Leur composition chimique paraît différente de celle des lignines, mais les opinions divergent quant à leur nature exacte. Ce sont en tout cas des produits de poids moléculaire réduit qui font donc transition avec les substances solubles que nous envisagerons au paragraphe III.

Application pratique. — Si la lignine est une source importante d'humus, on conçoit que les déchets de l'industrie du bois, sciures et copeaux, puissent être utilisés comme amendements en assurant une élévation durable du taux de carbone organique du sol. Mais le bois est encore beaucoup plus pauvre en N, P, K que la paille et son apport entraîne parfois des symptômes de faim d'azote qu'il faut prévenir grâce à une fumure convenable. De plus, la sciure fraîche est peu favorable ou nuisible et n'est à conseiller qu'en couverture où elle protège le sol et élimine les mauvaises herbes.

Par contre, des produits déjà décomposés peuvent donner de bons résultats (LUNT, 1955) ; mais, dans la pratique, il est assez difficile d'obtenir des composts vraiment satisfaisants. Une humidité assez élevée est nécessaire à leur préparation ainsi que l'addition d'éléments fertilisants : N jusqu'à obtenir un taux de 0,75 à 1 % (ALLISON

et COVER, 1960), P, K, Mg, S. Par contre, les avis divergent quant à l'utilité du chaulage ; l'élévation du pH jointe à l'humidité et à la richesse en azote, favorise le premier type de transformation conditionné par le développement des agents de pourriture molle. L'acidité tendrait plutôt à favoriser le second type, c'est-à-dire les activités ligninolytiques conduisant à la formation de substances humiques peu condensées (JACQUIN et MANGENOT, 1959). Aussi pour F. HOFFMANN et ses collaborateurs (1963), le chaulage est-il à rejeter, tandis qu'ALLISON et COVER (1960) le recommandent.

L'inoculation du compost a été conseillée d'abord par DAVEY (1955) : la sciure enrichie en N par l'ammoniac gazeux est amenée à pH 6,5 par l'acide phosphorique puis inoculée par *Coprinus ephemerus* qui la transforme rapidement en une sorte de mull. Les essais de BONNEAU et ses collaborateurs (1964), confirment la grande importance de l'humidité : en milieu acide, mais aussi à pH 7,2, apparaissent des pourritures blanches localisées à une certaine profondeur où la teneur en eau est modérée mais constante. A ce niveau on rencontre peu de substances humiques, peut-être parce que les produits mobiles qui y prennent naissance sont lessivés. En effet, sous cette zone, la sciure, peuplée en majorité de Champignons, s'enrichit peu à peu en acides humiques et fulviques, surtout si elle demeure acide. L'addition ultérieure de CaCO_3 améliore la capacité d'échange, mais l'humus extractible est moins abondant peut-être parce que les produits formés sont assez instables et progressivement dégradés à pH élevé.

III. — LES CONSTITUANTS SOLUBLES DES VÉGÉTAUX SUPÉRIEURS

Nous savons déjà que les organes végétaux en décomposition, peut-être même dès leur entrée en sénescence, se chargent de substances préhumiques, solubles ou non. Mais si le fait est bien connu, les matières premières impliquées dans ces transformations ont été rarement identifiées.

Certains indices permettent de croire raisonnablement à la participation de composés aromatiques. Ces derniers existent dans les tissus de tous les végétaux vasculaires ainsi que chez les Bryophytes, soit à l'état libre et réactif, soit sous forme d'hétérosides dans lesquels leurs propriétés sont en partie masquées, soit enfin liés à des organites cellulaires. Leur teneur dans les différents organes de la plante est très variable suivant les espèces, l'âge des tissus, leur nature, les conditions du milieu : par exemple ils sont plus abondants chez les individus poussant sur mor que chez ceux vivant sur mull (DAVIES et coll., 1964).

1° On sait que ces composés sont rejetés par excrétion foliaire ou radicellaire durant la vie de la plante et DAVIES et ses collaborateurs (1960) ont attribué aux polyphénols lessivés à partir du feuillage un rôle essentiel dans la podzolisation. D'autre part, à la mort des organes végétaux, ces substances sont libérées rapidement par autolyse ou

par hétérolyse sous l'influence des micro-organismes, ce qui permet leur condensation. Ainsi BLOOMFIELD (1963) rencontre dans les litières, au cours des premiers stades de leur décomposition, des polyphénols plus complexes et donc plus résistants que ceux des feuilles vivantes et il pense que ces substances se forment déjà lorsque débudent les phénomènes de sénescence.

On rapprochera de cette observation le fait que des feuilles séchées à l'air ou vertes, mais traitées par le chloroforme qui altère la perméabilité cellulaire, laissent exsuder dans l'eau des quantités importantes de substances dont l'oxydation est rapide, même en conditions aseptiques, et conduit à des composés analogues aux substances humiques. Cette transformation semble activée par les argiles. JACQUIN et MANGENOT (1966) et METCHE et ses collaborateurs (1968) ont prouvé qu'elle résultait d'une condensation oxydative de composés phénoliques et de substances azotées sous l'influence des enzymes de la plante.

2° Dans la nature, cette auto-oxydation pourrait être complétée ou suppléée par l'action des phénolases bactériennes ou fongiques. On sait depuis bien longtemps que de nombreux micro-organismes sont capables de provoquer des réactions de brunissement conduisant à la production de substances « parahumiques » à partir de divers composés aromatiques : acide benzoïque, acide salicylique, cyclolignanes. Ces réactions ont fait l'objet d'études récentes et approfondies (SUNDMAN et HARO, 1966 ; HARDISSON et POCHON, 1966). Les Bactéries, Levures et Champignons filamenteux susceptibles de provoquer le brunissement d'extraits végétaux ou de solutions d'acides phénols (acide protocatéchique, par exemple) sont très nombreux dans la phyllosphère et les litières fraîches. WIERINGA (1964) a montré leur rôle dans les tourbes dont le noircissement avait été attribué par BURGEFF (1961) à la formation de mélanines à partir de la tyrosine sous l'influence des symbiontes des Ericacées. L'intervention de la laccase dans les racines en cours de décomposition a été mise en évidence par TROJANOWSKI et MATWIJOW (1964).

On rejoint ainsi l'hypothèse, déjà mentionnée, de SWABY et LADD (1962) pour qui l'origine de l'humus se trouve dans une condensation rapide entre polyphénols et acides aminés, dès la mort de la cellule, végétale ou microbienne, et non pas dans la très lente transformation de la lignine ou dans la réaction de MAILLARD. Nous discuterons ces points plus loin, mais il faut se rappeler que la réaction de BAVENDAMM (p. 134) est une réaction de brunissement des phénols et caractérise les espèces qui attaquent la lignine, ou du moins un grand nombre d'entre elles sans en être l'apanage exclusif (HAIDER et SCHETTERS, 1967).

3° La formation de substances humiques pourrait encore reposer sur la transformation des glucides solubles ou solubilisés par voie enzymatique. Cet aspect a surtout été envisagé dans le cas des Myxobactéries cellulolytiques qui produisent des gelées dont les caractères de solubilité sont analogues à ceux des substances humiques, mais dont la composition est fort différente, en raison de leur richesse en N et en acides uroniques. On connaît l'aptitude de ces derniers au brunissement, mais KONONOVA (1961) pense que, dans les conditions naturelles, ce sont les plasmas bactériens qui se combinent à des polyphénols et se trouvent ainsi incorporés à l'humus.

Les Champignons cellulolytiques fournissent aussi des mucilages que JENSEN (1931) considérait comme voisins de l'humus et dont VON PLOTTHO (1951) interprétait la formation par une sorte de réaction de MAILLARD.

Mais le rôle des glucides est plutôt celui de sources de carbone à partir desquelles sont synthétisés les constituants des micro-organismes et, en particulier, leurs pigments (SIMONART, 1964).

IV. — LES PIGMENTS MICROBIENS

1° Les mycéliums des Champignons fuligineux, les fructifications de nombreux Ascomycètes et Sphérropsidales, certaines spores et conidies ont leur paroi chargée de pigments sombres que l'on classe parmi les *mélanines* (fig. 64). Ils résultent en effet, peut-être, de la condensation oxydative d'unités tyrosine, comme les mélanines vraies et, en tout cas, ils dérivent très probablement d'unités aromatiques.

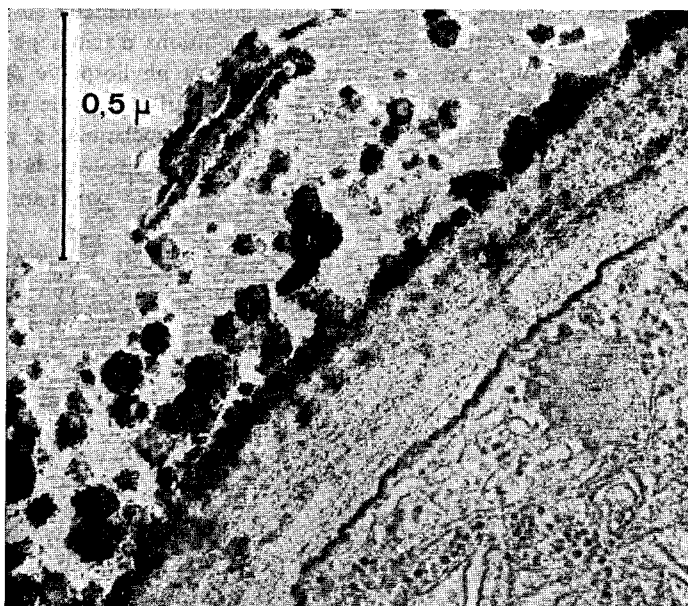
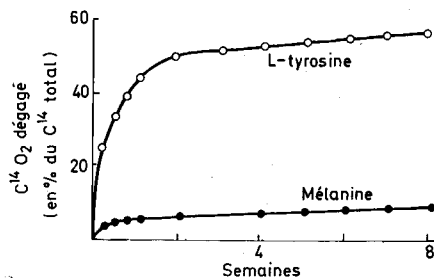


FIG. 64. — *Paroi d'un conidiophore de Dendryphiella vinosa*, espèce répandue sur les débris végétaux en décomposition. On remarque les grains de mélanine emprisonnés dans un mucilage partiellement gonflé et en voie de dispersion (photo REISINGER).

Ces pigments sont des substances très stables (fig. 65) protégeant efficacement les parois contre la biodégradation (KUO et ALEXANDER, 1967) de sorte que, dans les sols où la faune est peu active, les hyphes fuligineuses subsistent longtemps : c'est le cas du mor. Sinon, les animaux dilacèrent et ingèrent les hyphes et autres organes pigmentés dont les parois se retrouvent fragmentées dans les pelotes fécales et mêlées ainsi au sol (humus coprogène des moders).

FIG. 65. — Stabilités, dans le sol, de la tyrosine et d'une mélanine (KUO et ALEXANDER, 1967).



Comme ces mélanines fongiques sont partiellement solubles dans la soude diluée, elles sont extraites du sol en même temps que les substances humiques vraies. KUMADA et HURST (1967) ont isolé de divers sols, en particulier des podzols, un acide humique vert, parfois très abondant et qui semble bien être un pigment (perylène-quinone) incrustant les sclérotés d'un Champignon, peut-être *Cenococcum graniforme*.

Chez *Cephalosporium gordonii*, le pigment rubacine donne, en se condensant (AURICH et coll., 1963) une substance incrustant les hyphes et qui se rapproche des acides humiques gris (KLEIST et MÜCKE, 1966).

Il y a d'ailleurs bien longtemps que l'on a envisagé les analogies possibles entre substances humiques et produits sombres du mycélium, des spores, du milieu de culture de divers Champignons (JENSEN, 1932 ; QUILICO et DI CAPUA, 1933 *apud* KANG et FELBECK, 1965).

MÜLLER et KLEINHEMPEL (1966) classent les Champignons qu'ils ont étudiés en deux groupes : non humifiants achromogènes et humifiants pigmentés. Lorsqu'on les cultive sur des débris végétaux, les seconds seuls améliorent le taux d'humification et certains produisent même des substances humiques d'un type très évolué (*Cladosporium*, *Stachybotrys*, *Stemphylium*).

Par ailleurs, de nombreux Champignons, chromogènes ou non, renferment une fraction non hydrolysable et résistante que l'on a comparée à la lignine et dont le taux pourrait atteindre 24 % (*Cladosporium*, PINCK et ALLISON, 1944).

Selon MAYAUDON et SIMONART (1963), la décomposition dans le sol du mycélium hyalin d'*Aspergillus* ¹⁴C fournit surtout un résidu non extractible — déjà présent dans le mycélium frais — et très peu d'acides humiques et fulviques.

2° Dans les cultures âgées de certains *Streptomyces* et de divers Champignons (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Stachybotrys*) apparaissent des substances brunes insolubles en milieu acide. Mais le phénomène se produit seulement

dans certaines conditions de nutrition (VON PLOTTHO, 1951 ; KÜSTER, 1958), à partir du moment où le pH dépasse nettement 7 et où le potentiel redox devient positif. Ceci correspondrait à des phénomènes d'autolyse : le milieu se charge de protéines, d'acides aminés, de composés aromatiques parmi lesquels des pigments (pérylène-quinones, dérivés de l'anthraquinone ou de la naphthoquinone) (KÜSTER, 1952) qui pourraient subir des condensations oxydatives en présence d'ammoniac (KÜSTER, 1950). Les souches qui présentent cette propriété élaborent des phénolases (KÜSTER, 1955 ; KONOVA et ALEKSANDROVA, 1958).

Cependant les produits ainsi formés sont assez différents des acides humiques naturels par leur solubilité, leur composition élémentaire et les acides aminés qu'ils renferment (VON PLOTTHO, 1950 ; KÜSTER, 1955 ; BREMNER et coll., 1955).

GEL'TSER (1962) pense que ces synthèses humiques tardives sont liées à la présence de Bactéries contaminant les souches fongiques, pures en apparence, et se développant quand le pH s'élève. Quoi qu'il en soit de cette interprétation, il est certain que les cultures mixtes présentent souvent des pigmentations absentes des cultures pures (BURGEFF, 1961).

V. — COMMENT PEUT-ON CONCEVOIR L'HUMIFICATION DANS LA NATURE ?

La réponse à cette question est encore pour une large part hypothétique.

Les substances humiques pourraient provenir, outre les sources d'N, de la lignine, des polyphénols végétaux, des pigments microbiens. Comment a lieu le passage de ces matières premières au produit fini ?

Quand il s'agit de substances insolubles, telles que la lignine ou les mélanines, ou bien elles sont solubilisées et rejoignent avec un certain retard la catégorie ci-dessous ; ou bien elles demeurent insolubles et ne peuvent qu'être mêlées plus ou moins intimement à l'argile par des actions mécaniques, ce qui permettrait éventuellement leur liaison à la fraction minérale.

Quand il s'agit de substances plus ou moins solubles ou biodégradables en unités solubles (certains pigments, hétérosides polyphénoliques, etc.) il est probable qu'elles sont activées à la mort des cellules, peut-être même dès leur sénescence lors des phénomènes d'autolyse ou d'hétérolyse. Elles s'engagent immédiatement, dans l'organisme ou hors de celui-ci, dans les processus de condensation oxydative catalysés par des enzymes d'origine interne ou externe. Ceci est concevable dans le cas des litières comme dans celui de micro-organismes (colonies bactériennes, mycéliums).

Sur quoi reposent ces hypothèses ?

a) *Les données de la micromorphologie.* — On peut essayer de suivre, au microscope, l'humification de feuilles mortes, en pratiquant des coupes sur des matériels

plus ou moins transformés. HANDLEY (1954), KONONOVA (1961), BABEL (1964), PAULI (1967) sont d'accord sur le fait que des substances brunes apparaissent dans les cellules avant que les tissus lignifiés présentent des altérations visibles. Pour KONONOVA, ce sont des Myxobactéries qui dégradent d'abord les parois cellulodiques et dont les protoplasmes sont ensuite humifiés. Mais les substances obtenues à partir de cellulose

TABLEAU XLIV. — COMPOSÉS PHÉNOLIQUES OBTENUS PAR DÉGRADATION DE DIVERS ACIDES HUMIQUES

	PODZOL (PIN)		RENDZINE (PRAIRIE)		CHER- NOZEM	MULL (CHÊNE)		MOUSSES	Azoto- bacter
	(a)	(b)	(a)	(b)	(a)	(a)	(b)	(a)	(b)
Acide <i>p</i> -hydroxy- benzoïque	+	+	++	+	+	++	+	—	+
Acide vanillique	++	+	+++	+	++	++	+	—	—
Acide syringique	—	—	++	—	+	++	+	—	—
Dérivés du phényl- propane	+	+	++	+	+	—		—	—
Phloroglucinol	+++		Trace		++	—		++	
Résorcinol	+++	+	+	—	+++	++	—	++	—
Méthylphloroglucinol	++		Trace		++	—		+	
Acide protocatéchique	+	+	+	+	+	+	—	—	+
Acide 3-5-dihydroxy- benzoïque	++		Trace		+	—		+	+

^a Selon BURGES et coll., 1964.

^b Selon ROBERT-GERO et coll., 1967.

pure, dans le sol, sont bien différentes de celles que fournissent des racines en décomposition : elles sont plus riches en N, probablement pauvres en noyaux aromatiques (spectres IR) et d'activité physiologique réduite (MYSKOW, 1967). La cellulose n'est donc pas la matière première de ces substances brunes dont BABEL a figuré (fig. 66) l'apparition puis la disparition ; bien au contraire, elles pourraient protéger les parois cellulodiques (HANDLEY) dont la persistance est parfois égale à celle des parois lignifiées (BABEL).

b) L'analyse du « nucléus ». — BURGES et ses collaborateurs (1964) ont essayé de préciser le rôle des différentes matières premières dans la formation de l'humus en analysant le nucléus des acides humiques extraits de divers sols. Nous avons groupé leurs résultats avec ceux de ROBERT-GERO et ses collaborateurs (1967) concernant les

pigments d'*Azotobacter* (tableau XLIV). Les composés du groupe I sont des produits habituels de dégradation de la lignine et font défaut dans un humus de Bryophytes comme ils sont rares dans les tourbes de *Sphagnum* étudiées par FARMER et MORRISON (1964). Les substances du groupe II peuvent avoir des origines variées (flavonoïdes, produits de synthèses microbiennes où les substitutions en 3-5 sont fréquentes).

Mais l'analyse du nucléus donne des résultats trop variables et fournit trop peu de produits caractéristiques (STEVENSON et MENDEZ, 1967) pour qu'on en espère des réponses indiscutables.

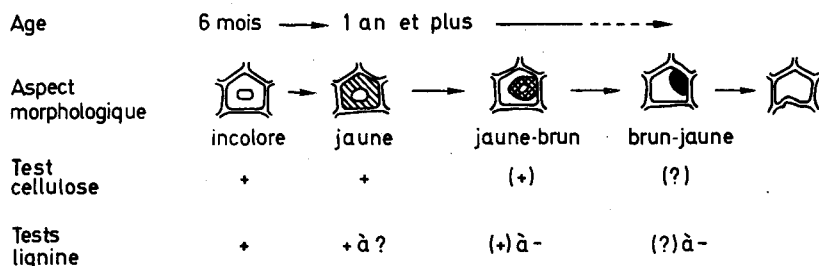


FIG. 66. — Décomposition de la paroi secondaire d'une cellule de sclérénchyme (BABEL, 1964). Comparer avec le tableau XXII.

c) **Les matériels marqués.** — L'emploi de tissus végétaux ou de mycéliums marqués sur le C est, semble-t-il, plus prometteur. Nous avons déjà mentionné les travaux de SIMONART et de MAYAUDON ; ils permettent d'envisager les explications suivantes :

1° Dans une première phase, les composés phénoliques solubilisés et activés par hydrolyse des hétérosides ou destruction des organites cellulaires, sont mis en présence de substances azotées et d'oxydases végétales ou microbiennes. Ils donnent naissance à des produits bruns, dans les cellules ou sur les argiles qui les ont adsorbés et facilitent

TABLEAU XLV. — LIBÉRATION DE COMPOSÉS PHÉNOLIQUES ET SYNTHÈSE D'HUMUS DANS DES RACINES DE MÉLILOT EN DÉCOMPOSITION DANS LE SABLE (MYSKOW et MORRISON, 1964)

Temps d'incubation (jours)	0	10	20	30	72	90
Acide syringique (en µg/g)	Traces	—	30	100	60	90
Acide vanillique (en µg/g)	Traces	—	10	120	40	60
p-Hydroxybenzaldéhyde (en µg/g)	20	30	60	60	80	90
Acide mélilotique (en µg/g)	490	1 600	0	0	0	0
Acides humiques (%)	7,9	24,5	15,2	—	9,6	8,4

leur transformation. L'oxydation des phénols solubles est un processus rapide : dans les racines de Mélilot en décomposition, le taux maximal d'humus se situe à dix jours, au moment où la teneur en acide mélilotique est la plus élevée, alors que les fragments caractéristiques de la lignine sont encore peu abondants (tableau XLV) (MYSKOW et MORRISON, 1964).

Ceci n'exclut pas qu'une partie des substances aromatiques soit, en même temps, métabolisée. Les deux processus de condensation oxydative et de minéralisation se déroulent sans doute concurremment avec prédominance de l'un ou de l'autre suivant les conditions du milieu et les caractères de sa population.

2° L'altération de la lignine, avec libération d'unités aromatiques, survient plus tard et alimente une deuxième étape des synthèses humiques, sous les mêmes réserves que précédemment quant aux possibilités de minéralisation.

3° On est moins bien renseigné sur la participation des pigments microbiens. Pourtant les seuls acides humiques gris obtenus *in vitro* par SPRINGER (1950) provenaient de cultures fongiques et le bilan dressé par KANG et FELBECK (1965) montre, de façon tout à fait théorique d'ailleurs, que l'activité des seuls Champignons pourrait suffire à approvisionner le sol en substances humiques.

d) La maturation. — La lignine, comme les polyphénols solubles, fournit uniquement — dans tous les cas étudiés — des composés préhumiques hydrosolubles ou semblables aux acides fulviques et humiques bruns, avec une certaine proportion d'humine. Une fois dans le sol, ces substances subissent sans doute une maturation, dans des conditions mal connues, sous l'influence de facteurs biologiques et physiques (adsorption, gel, dessiccation).

ALEKSANDROVA et ANDREEVA (1963) ont étudié l'évolution de la solubilité d'acides humiques et fulviques au cours de l'incubation en présence de sable ou d'argile : sur sable, les formes condensées tendent généralement à devenir plus mobiles, surtout si l'humidité est élevée, et la maturation des acides fulviques est très réduite. En présence d'argile, ces derniers tendent à devenir insolubles, tandis que le degré de condensation des acides humiques paraît augmenter ; en même temps se forment des acides fulviques, par suite, semble-t-il, d'une libération des fractions moins polymérisées et plus riches en N.

e) Le rôle de la faune. — On a souvent exprimé l'idée que les Vers de terre « catalysaient » en quelque sorte l'humification en mêlant les matières premières de l'humus aux colloïdes du sol de sorte que les phénomènes de condensation ont lieu *in situ* ; l'humification bactérienne est probablement plus complète dans le tube digestif de l'animal que dans le sol ; les mycéliums fuligineux et récalcitrants sont soumis à l'action abrasive des particules minérales auxquelles leurs débris s'associent intimement ; tout ceci concorde avec les caractéristiques des mulls. La mésofaune est incapable de telles actions : le contenu de leur tractus digestif est en grande partie organique ; aussi les matières résistantes sont-elles simplement dilacérées et leur association aux constituants minéraux se limite à un mélange grossier (moder) (fig. 67).

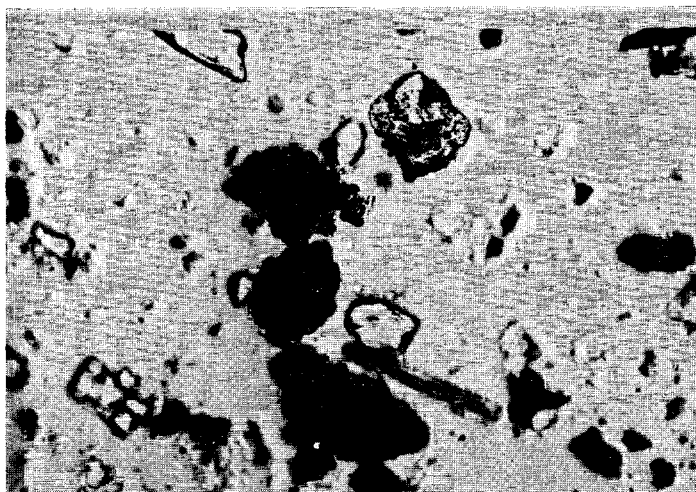


FIG. 67. — Excréments d'Oribates dans les sables des landes de Gascogne (original).

E. — LA DÉSHUMIFICATION

Les solutions alcalines d'humates dégagent spontanément un peu de CO_2 et une très faible quantité d' O_2 , mais la déshumification est, sans aucun doute, un phénomène biologique dont les modalités et l'importance, dans la nature, nous sont toutefois encore bien mal connues. En effet, la plupart des études qui lui ont été consacrées ont été conduites *in vitro* et suivant des méthodes dont la valeur réelle est discutable.

L'une des caractéristiques essentielles des substances humiques est leur résistance à la biodégradation. Mais cette résistance n'est pas absolue et varie suivant les fractions considérées, suivant les conditions du milieu et, en particulier, la présence de colloïdes argileux.

Ainsi les acides fulviques sont probablement des sources de C et d'N plus facilement utilisables que les acides humiques et, parmi ces derniers, les plus foncés, c'est-à-dire les plus condensés, semble-t-il, sont aussi les plus résistants (MISHUSTIN et NIKITIN, 1961). Les fractions hydrolysables ont un turnover plus rapide, mais les complexes les plus volumineux sont aussi les plus attaqués, selon MATHUR et PAUL (1966).

I. — AGENTS DE LA DÉSHUMIFICATION

La dégradation des substances humiques a été attribuée par WINOGRADSKY à la microflore autochtone, mais les avis sont partagés quant à la réalité même de cette dernière (cf. SZEGI, 1967). Sans doute TEPPER (1962) confirme-t-il les données de WINOGRADSKY, mais il n'y a pas de preuve de l'existence d'une microflore déshumifiante spécialisée.

Divers auteurs ont accordé une importance particulière aux Actinomycètes (Pro-actinomycètes = *Nocardia*, Mycobactéries, *Streptomyces*). C'est le cas notamment de KÜSTER (1950), I. V. ALEKSANDROVA (1953), SCHÖNWÄLDER (1958), TEPPER (1962), SZEGI (1967). Mais le rôle prééminent de ces organismes n'a pas été retrouvé par DROZDOWICZ et HORSZCZARUK (1966) ou MATHUR et PAUL (1967).

On a cité encore des Bactéries : *Pseudomonas fluorescens*, *Achromobacter*, *Serratia*, *Bacillus cereus*, *Arthrobacter*, des microcoques (MISHUSTIN et NIKITIN, 1961 ; VOLKOVA, 1961 ; MATHUR et PAUL, 1967). Mais ni les cellulolytiques, ni les *Azotobacter* ne seraient actifs.

On rencontre encore des Champignons filamenteux : *Penicillium*, *Aspergillus* (DROZDOWICZ et HORSZCZARUK, 1966 ; MISHUSTIN et NIKITIN, 1961), *Spicaria*, *Cephalosporium* (ALEKSANDROVA, 1953) et enfin, selon BURGES et LATTER (1960), des Basidiomycètes lignivores : *Polystictus*, *Nematoloma*, *Polyporus*.

Mais le nombre d'espèces bactériennes capables d'utiliser même un extrait humique global, pourtant plus fragile, semble-t-il, que des acides humiques purifiés, apparaît très réduit à PIGNAUD et ses collaborateurs (1966) qui considèrent Champignons et Actinomycètes comme peut-être plus importants.

Les cultures mixtes sont plus actives que les cultures pures (SCHÖNWÄLDER, 1958) ou même associées, selon VOLKOVA (1961), qui reconnaît une succession *in vitro* de Bactéries (3 mois) puis d'Actinomycètes ; mais, en présence de sol, ces derniers sont moins nombreux et, après un an, ne représentent que la moitié de la population. ALEKSANDROVA (1953) pense que, dans la nature, la décomposition des acides humiques est assurée par des populations complexes comprenant notamment des formes attaquant les substances aromatiques. Ceci est en accord avec l'hypothèse de SWABY et LADD (1962) suivant laquelle, seules, des populations hétérogènes pouvaient posséder toutes les enzymes nécessaires à la rupture des nombreux types de liaison existant dans la molécule d'acide humique.

Il semble que les Bactéries attaquent surtout les chaînes latérales aliphatiques alors que les Actinomycètes dégraderaient aussi le squelette avec décoloration du milieu. Les Champignons lignivores et même *Penicillium* ont une action apparemment semblable, mais il arrive que la décoloration soit due à une simple adsorption de l'acide humique sur les hyphes fongiques (FLAIG et SCHMIDT, 1957 ; BURGES et LATTER, 1960).

Les humates n'ont aucune toxicité si leur concentration dans le milieu est assez faible, 200 à 1 000 mg/l suivant les auteurs. Enfin des acides humiques d'origines différentes ne semblent avoir aucun effet électif vis-à-vis des micro-organismes susceptibles de les attaquer.

II. — LES FACTEURS DU MILIEU

a) **Sources de carbone.** — Toutes les expériences concordent pour montrer que la présence de sources de carbone facilement utilisables et à concentration suffisante (0,5-2 %), non seulement stimule la croissance des micro-organismes, mais favorise ou même conditionne la dégradation *in vitro* des acides humiques. Elle est nécessaire dans le cas des Bactéries, des Levures, des Champignons filamenteux alors que certains Actinomycètes peuvent s'en passer, bien que leur activité soit alors très réduite (tableau XLVI; SZEGI, 1967). La cellulose est parfois plus favorable que les sucres solubles. Enfin les Basidiomycètes étudiés par HURST et ses collaborateurs (1962) décolorent les acides humiques en l'absence d'autres sources de carbone.

L'effet stimulant des glucides se traduit moins, semble-t-il, par une augmentation numérique des micro-organismes que par des synthèses enzymatiques accrues (KUNC et MACURA, 1966) ou bien encore, elle permettrait le déroulement d'une étape préliminaire à l'oxydation des acides humiques, mais ce dernier point de vue reste hypothétique.

TABLEAU XLVI. — INFLUENCE DU MILIEU SUR L'UTILISATION DES ACIDES HUMIQUES
PAR DIVERS MICRO-ORGANISMES
(selon SZEGI, 1967)

(Les chiffres représentent les mg d'humus décomposé pour un apport initial de 5 mg)

	TÉMOIN	NH ₄ NO ₃	GLUCOSE	GLUCOSE + N	CELLU- LOSE	CELLU- LOSE + N
<i>Streptomyces venezuelae</i>	0	0	0,35	3,50	1,92	3,35
<i>Streptomyces</i> sp. M 1	0,35	0,05	0,10	3,50	1,77	2,55
<i>Streptomyces albus</i>	0,25	0,05	1,27	0,50	0,90	0,97
<i>Streptomyces chartreusis</i> ser.	0,87	0	1,05	3,10	1,55	1,77
<i>Aspergillus candidus</i>	0	0	0	2,82	0	1,15
<i>Penicillium</i> <i>purpurogenum</i> ser.	0	0	1,47	0	2,77	0
<i>Fusarium aquaeductum</i>	0	0	1,45	4,0	1,80	0
<i>Verticillium candelabrum</i>	0	0	1,35	1,25	3,12	2,07

b) **Sources d'azote.** — Leur effet est encore plus variable, montrant ainsi que l'N des chaînes latérales est plus disponible que le C, tout en étant beaucoup moins utilisable que les autres formes organiques ou minérales de l'N (FLAIG et SCHMIDT, 1957).

La plupart des espèces, y compris les Levures, peuvent dégrader les acides humiques seulement en présence d'une source de C, et un apport simultané d'azote et de sucre ou de cellulose peut être moins avantageux qu'un apport glucidique seul ; la fourniture d'N seul est sans effet ou nuisible (NIKITIN, 1961 ; SZEGI, 1967) ou parfois stimule les Actinomycètes (VOLKOVA, 1961).

c) **Carbonate de calcium.** — Les humates calciques semblent être plus facilement dégradés *in vitro* que les sels de sodium, peut-être simplement par suite d'un effet tampon (pH 6,8 à 7,0) qui ajuste le milieu à la valeur optimale pour les activités enzymatiques (peroxydase, NIKITIN, 1961). Mais les acides humiques floculés sous forme de sels de calcium présentent, dans les conditions naturelles, une très grande stabilité.

d) **Argile.** — On connaît déjà l'effet protecteur des argiles sur la matière organique du sol et SEN (1961) a montré que l'oxydation des acides humiques était ralentie en présence d'illite et surtout de montmorillonite. La présence d'Al⁺⁺⁺ renforce encore cet effet, peut-être en assurant une liaison plus étroite des colloïdes organiques et minéraux. A titre d'exemple, on estime que le taux annuel de décomposition de la matière organique est de l'ordre de 1,8 % en sol lourd et de 2,2 % en terre légère, dans le nord de la France.

III. — MÉCANISMES D'ACTION

La dégradation des acides humiques est un phénomène d'oxydation assuré par des micro-organismes produisant des peroxydases ou des phénolases. Le premier cas a été mis en évidence par NIKITIN (1961) chez *Pseudomonas fluorescens* : la dégradation du substrat par une culture pure d'une part, et par l'eau oxygénée en présence de peroxydase d'autre part, fournit des produits de fragmentation dont les comportements chromatographiques sont semblables et qui correspondent aux acides fulviques et hymatomélaniques.

HURST et ses collaborateurs (1962) ont montré que les Champignons supérieurs dégradant les acides humiques réduisent les groupements —COOH des acides hydroxybenzoïques ; ce sont pourtant des agents de pourriture blanche oxydant les diphénols et présentant une réaction de BAVENDAMM positive. Les deux propriétés sont liées et, selon ces auteurs, la décomposition des acides humiques comporterait une phase initiale de réduction couplée à l'oxydation d'un aliment énergétique, par exemple d'un

sucré. On remarquera que le rôle de l'activité phénolasique n'est pas démontré ici, pas plus d'ailleurs qu'il ne l'est en ce qui concerne la dégradation de la lignine.

Avec *Penicillium frequentans*, l'attaque est assurée par un système enzymatique inductible (MATHUR et PAUL, 1967) mais la phase initiale de réduction n'a pu être mise en évidence et l'attaque comporterait une hydrolyse de liaisons éther $-C-O-C-$ (PAUL et MATHUR, 1967).

F. — BILAN DE LA MATIÈRE ORGANIQUE

I. — PRINCIPES

Au cours de chaque cycle annuel, le sol reçoit une certaine quantité de matière organique fraîche sous forme de rameaux et troncs, feuilles, inflorescences, fruits et racines, mais aussi sous forme d'exsudats foliaires et radicellaires.

Dans un écosystème en équilibre, ces apports sont nécessairement égaux à la productivité nette puisque la biomasse doit rester constante.

Une partie de cette matière première est assimilée et incorporée à la biomasse du sol.

Une autre partie est minéralisée sous l'action des consommateurs et des décomposeurs, suivant les modalités que nous avons décrites en étudiant les cycles biogéochimiques.

Une troisième fraction est humifiée, comme nous venons de le voir, en donnant naissance par des processus originaux de synthèse à une matière organique relativement stable.

Enfin une fraction plus ou moins importante de cette dernière est, à son tour, dégradée et partiellement minéralisée par la déshumification.

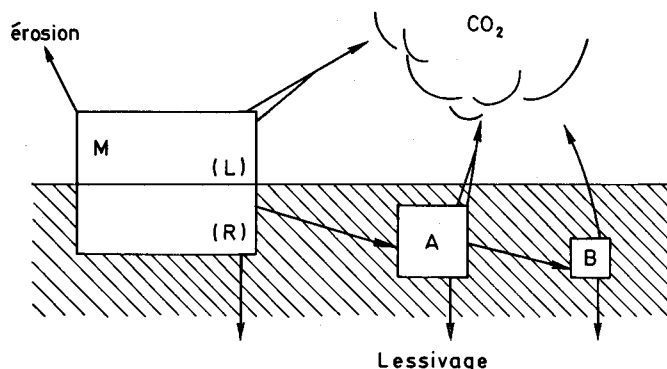
Il faut ajouter à cette chaîne majeure, des « fuites » qui se produisent en cours de route et correspondent à l'érosion, au lessivage des produits solubles et enfin aux exportations dans les sols cultivés (fig. 68).

Si le système est en équilibre, le taux de matière organique dans le sol doit rester constant et, par conséquent, les apports doivent être exactement balancés par les pertes.

Dans la forêt pluviale sempervirente, des débris végétaux s'accumulent à toute époque et l'activité minéralisatrice se poursuit sans repos, bien que des fluctuations saisonnières entraînent un certain déphasage des rythmes d'accumulation et de décomposition (LAUDELOUT et coll., 1960).

Dans les régions tempérées, en forêt caducifoliée, l'apport est massif en automne, puis la productivité s'annule, tandis que la minéralisation est plus ou moins réduite

FIG. 68. — Les grandes classes de la matière organique et le sol. Les apports M sont représentés par les litières fraîches (L) et les racines (R). Ils se transforment, en partie en matière organique labile ou humus libre (A) qui à son tour donne naissance à l'humus lié (B) partie intégrante du sol.



pendant la saison froide. Un raisonnement analogue s'applique sans doute aux tropiques secs où le ralentissement des activités n'est plus lié à la température mais à l'humidité insuffisante.

Dans le premier cas, les fluctuations de la matière organique sont limitées, dans les seconds, elles sont importantes, le pool organique connaît des périodes de hautes et basses eaux, et le bilan s'équilibre seulement si l'on considère un cycle annuel complet.

Si une intervention extérieure vient modifier l'équilibre naturel : modification du relief entraînant drainage ou engorgement, défrichement ou reboisement, etc., le taux de la matière organique subit des variations. Il s'élève dans les sols agricoles par la jachère ou la mise en pâturage ; il s'abaisse par exportation des récoltes, brûlage des résidus ou à la suite de façons culturales exaltant les activités minéralisatrices.

II. — MODÈLES MATHÉMATIQUES PROPOSÉS POUR L'ÉTUDE DE LA DYNAMIQUE DE LA MATIÈRE ORGANIQUE DANS LE SOL

a) *Modèle concernant les litières forestières* (OLSON, 1963). — Si P est le poids de litière à l'hectare et si l'on considère un intervalle de temps dt (une année, par exemple), on admet que la variation du poids de litière dP pendant cet intervalle de temps est égale à la différence entre les apports annuels L (production annuelle de litière) et les pertes pendant cet intervalle. Si l'on admet, d'autre part, que chaque année, une proportion K de litière est perdue par minéralisation, érosion ou transformation à l'état de matière organique humifiée, on peut écrire :

$$\frac{dP}{dt} = L - KP$$

Dans un écosystème en équilibre ,

$$\frac{dP}{dt} = 0 \quad \text{d'où} \quad K = \frac{L}{P}$$

Le coefficient K peut être facilement déterminé puisque l'on peut mesurer les apports L (pesée des chutes de feuilles) et le poids P de litière au sol.

La figure 69 correspondant à des formations forestières sempervirentes montre que ce coefficient K varie, suivant les conditions climatiques, entre des chiffres inférieurs à $1/64$ et plus de 4.

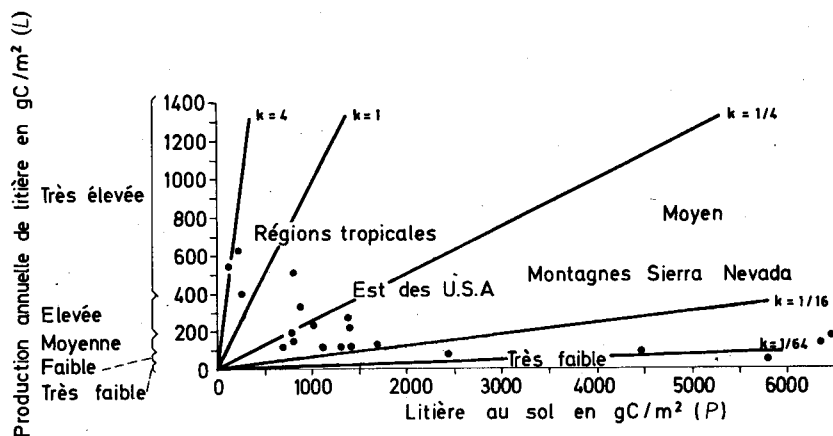


FIG. 69. — Estimation du taux de décomposition K dans les forêts à feuilles persistantes. Le coefficient K est calculé à l'aide de la formule : $K = \frac{L}{P}$

où L représente la production annuelle de litière et P la quantité de litière en place dans un peuplement en état d'équilibre (OLSON, 1963).

b) **Modèle simplifié** (JENNY, 1941 ; JENKINSON, 1963). — Si C est la teneur du sol en humus *sensu lato* (classes A et B du tableau XLII), M l'apport annuel de matière organique fraîche *sensu stricto* (cet apport est égal à la production nette de l'écosystème) et r la fraction de C disparaissant chaque année par minéralisation, lessivage ou érosion, on peut écrire, en raisonnant comme précédemment :

$$\frac{dC}{dt} = M - rC$$

Dans un écosystème en équilibre,

$$\frac{dC}{dt} = 0 \quad \text{d'où} \quad \frac{M}{r} = C_e$$

où C_e est la teneur du sol en équilibre.

Le coefficient r est de l'ordre de 0,02 à 0,03 dans les sols cultivés de zone tempérée (RUSSELL, 1961).

c) **Modèles plus complexes.** — Considérons un sol recevant annuellement un apport M de matière organique fraîche *sensu stricto* dont une fraction k_m donne naissance à l'humus *sensu lato* (classes A et B du tableau XLII). Soit C la teneur de ce sol en humus *sensu lato* et admettons que les pertes d'humus sont proportionnelles à cette teneur suivant un coefficient k_c dit *coefficient de décomposition de l'humus*. On peut alors écrire que, pendant un intervalle de temps dt donné, les gains en humus *sensu lato* qui résultent des synthèses humiques à partir des apports de matière organique fraîche, sont égaux aux pertes par décomposition :

$$\frac{dC}{dt} = k_m \cdot M - k_c \cdot C$$

GREENLAND et NYE (1959) ont utilisé une formule de ce type pour calculer le coefficient k_c dans le cas de diverses formations végétales (tableau XLVII).

TABLEAU XLVII. — DÉCOMPOSITION DE LA MATIÈRE ORGANIQUE
DANS DIFFÉRENTS SOLS À 75 % DU NIVEAU D'ÉQUILIBRE HUMIQUE
(selon GREENLAND et NYE, 1959)

	PLUVIOMÉTRIE mm/an	C RETOURNÉ en kg/ha/an	C AU SOL en kg/ha/an	k_c MIN. ET MAX.
<i>Altitude 0 à 450 m</i>				
Colombie	8 000	3 900	394 000	0,2 -0,5
Ghana	1 500-2 000	5 400	109 000	1 -2,5
Inde		5 400	51 000	2,2 -5,45
Congo	1 800	6 150	60 000	2 -5,1
Indonésie	3 000	5 400	74 000	1,4 -3,6
<i>Altitude 1 250-1 700 m</i>				
Colombie	2 800	5 100	403 000	0,25-0,63
Indonésie	2 500	5 400	348 000	0,31-0,77
Madagascar	2 000	5 400	350 000	0,31-0,80
Savane tropicale		(racines)		
Savane humide	1 270	1 500	51 000	1,33-0,53
Savane subhumide	890	450	17 000	0,49-1,22
<i>Zone tempérée</i>				
Forêt de Chênes	760	760	90 000	0,17-0,43
Forêt de Pins	760	1 700	88 000	0,39-0,95
Prairie	860	1 450	137 000	0,17-0,44

Un modèle plus élaboré a été proposé en 1959 par HÉNIN et ses collaborateurs, ces auteurs distinguant les apports (classe M , tableau XLII) de l'humus libre (classe A , tableau XLII) et de l'humus lié (classe B , tableau XLII).

On a alors :

$$\frac{dA}{dt} = M - \alpha A \quad (1)$$

α étant un paramètre de destruction des matières organiques variant entre 1 dans un sol cultivé où les apports sont consommés en un an et, par exemple, 0,03 dans les humus bruts où le taux de matière organique peut atteindre 30 fois les apports annuels.

$$\frac{dB}{dt} = k_1 \cdot \alpha A - k_2 \cdot B \quad (2)$$

où k_1 est le *coefficient isohumique*, c'est-à-dire la proportion de matière organique stable résultant de la transformation des débris initiaux ; k_2 est un coefficient de destruction de l'humus.

REMARQUE. — Même les plus complexes de ces différents modèles mathématiques sont assez grossiers et reposent sur des prémisses discutables. Ils supposent en particulier : 1° la constance des coefficients d'addition ou de perte de matière organique, ce qui est inexact puisque ces coefficients varient avec le climat ; 2° la proportionnalité entre les quantités de matière organique présente dans le sol et leur décomposition. On remarque d'autre part que, même les modèles les plus perfectionnés sont établis sur la base de l'existence dans le sol de deux fractions organiques seulement : matière organique fraîche à vitesse de décomposition rapide et humus à vitesse de décomposition réduite. En fait, des expériences telles que celles de JENKINSON (1963) montrent que la réalité est beaucoup plus complexe. On devrait donc envisager le développement de modèles tenant compte de cette situation. Mais leur complication entraîne un accroissement du nombre des paramètres à déterminer, ce qui soulève de grandes difficultés et, dans la pratique, on utilise en général le modèle simplifié décrit au paragraphe *b*. Même dans ce cas, des problèmes délicats se posent qui concernent en particulier la mesure de la productivité : s'il est facile de déterminer la masse des résidus de récolte ou de litière forestière, il n'en est pas de même pour les racines dont les vitesses de décomposition sont d'ailleurs très différentes de celles des litières.

Il en résulte que la détermination directe des paramètres conduit à des valeurs différentes suivant les auteurs et les expériences.

De tels calculs sont pourtant utiles, car ils permettent de comparer les dynamiques de la matière organique sous les différents climats et dans les différentes formations. Si l'on se reporte au tableau XLVII, on voit que le coefficient k_1 , sous les tropiques, est beaucoup plus élevé en plaine qu'en altitude où il se rapproche des valeurs trouvées dans la zone tempérée. Il est plus faible dans la savane que dans la forêt de plaine.

Ces calculs permettent encore de prévoir, pour une région donnée et dans une certaine mesure, les assolements ou les fumures ou les périodes de jachère susceptibles d'assurer probablement le maintien des réserves organiques d'un sol cultivé.

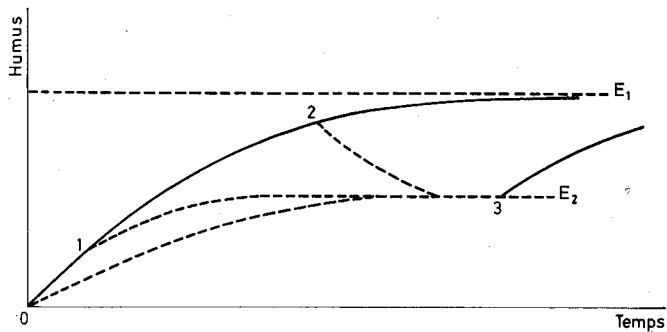
III. — NIVEAU D'ÉQUILIBRE

L'enrichissement en matière organique ne se produit pas à vitesse constante au cours de la pédogenèse ; il est rapide au début, puis se ralentit peu à peu au fur et à mesure que l'on approche d'un certain niveau d'équilibre défini par les caractères de l'écosystème. Ce ralentissement a des causes diverses, en partie conjecturales ; on peut supposer, par exemple, que les activités minéralisatrices augmentant au fur et à mesure de l'élévation du taux de matière organique, il arrive un instant où les pertes équivalent aux apports.

Ainsi OLSON (1958) a suivi l'évolution de dunes de sable aux Etats-Unis et a montré l'enrichissement rapide en N des plus jeunes formations ; par la suite, après une période qu'il évalue à un millénaire, le phénomène est stabilisé.

Réciproquement, si l'on supprime les apports (jachère nue) ou s'ils deviennent assez réduits pour ne plus compenser les pertes, le taux de matière organique diminue d'abord très vite, puis de plus en plus lentement au fur et à mesure de l'épuisement des réserves qui freine l'activité biologique. Si, par exemple, le taux de destruction de l'humus était de 3 % la première année, il sera de 2,44 % après 10 ans et ne descendra au-dessous de 2 % qu'après 30 ans.

FIG. 70. — Influence de la culture sur le niveau de l'humus (JENNY, 1965). E_1 , niveau d'équilibre en sol non cultivé ; E_2 , niveau d'équilibre en sol cultivé ; 1 et 2, dates de mise en exploitation ; 3, mise en jachère.



Ces variations sont donc exponentielles comme l'indiquaient les formules mathématiques ci-dessus.

Si l'on considère un écosystème défini par un ensemble de caractères du sol, du climat, de l'utilisation culturale, il doit lui correspondre un certain niveau d'équilibre du C ou de l'N organiques et cet état d'équilibre est le même quel que soit l'antécédent du système (fig. 70). Aussi les enrichissements les plus spectaculaires correspondent-ils à des sols minéraux fertiles, par exemple des cendres volcaniques (JENNY, 1965).

Sous les tropiques humides, l'ensemble du cycle de la matière organique est accéléré ; il en résulte que le niveau d'équilibre est atteint plus rapidement dans la zone inter-

tropicale — 2 à 3 ans au Congo ; en général moins de 10 ans — alors que pour les régions tempérées, il faudrait des décades ou des siècles.

On peut, sous les tropiques, maintenir un taux d'humus suffisant dans les cultures tournantes par une brève mise en jachère (fig. 71). Dans la zone des forêts, un rapport

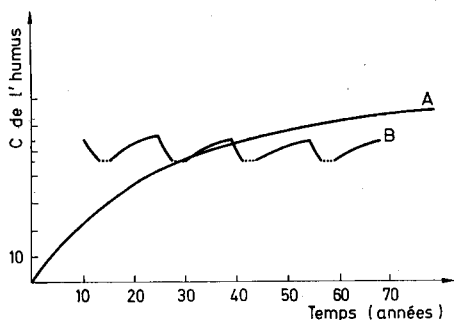


FIG. 71. — *Dynamique de l'humus*. A, Courbe théorique d'accumulation de la matière organique à partir d'un sol minéral ; B, Fluctuations du taux d'humus par mise en culture alternant avec des périodes de jachère, au Ghana (GREENLAND et NYE, 1959).

jachère/culture de 3 suffirait, en principe, dans des conditions favorables à maintenir un niveau humique de 75 %. Il faudrait, sous les mêmes réserves, un rapport de 12 dans la zone des savanes (GREENLAND et NYE, 1959).

Mais le niveau d'équilibre est plus ou moins élevé suivant les systèmes : il y a des sols plus aptes que d'autres à accumuler l'humus, peut-être, en partie, du fait de leur texture (RUSSELL, 1966) et une même méthode de conservation du sol peut être efficace ou non suivant les cas.

IV. — ASPECT QUALITATIF

On a considéré jusqu'ici des lois quantitatives ; or nous savons que les matières organiques du sol sont diverses et douées de propriétés inégalement favorables.

Leurs caractéristiques semblent pouvoir s'exprimer par un certain nombre de critères : densité optique des solutions ou, mieux, rapport des coefficients d'extinction à 472 et 664 $m\mu$ ($Q_{4/6}$ selon WELTE, 1955), mobilité électrophorétique, pouvoir complexant, etc. La densité optique est un des critères de fertilité retenus par PAULI (1965).

En général, les produits pâles et mobiles sont peu condensés, relativement labiles et donnent facilement de petites molécules biologiquement actives. Leur pouvoir complexant leur permet de mobiliser les bases du sol. Les substances plus sombres sont plus condensées, plus stables.

Il est donc nécessaire, lorsqu'on évalue la marche de l'humification, de considérer, outre son aspect quantitatif, la qualité des produits formés. Celle-ci, comme le bilan, est sous la dépendance de nombreux facteurs relevant de la végétation, du climat, de la nature de la roche mère, etc.

G. — FACTEURS DE L'HUMIFICATION

Nous avons appris plus haut que, si la microflore n'est pas seule impliquée dans les processus de l'humification, elle y joue un rôle essentiel : la quantité et la qualité des humus apparaît, en quelque sorte, comme un reflet de l'équilibre existant entre les fonctions minéralisatrices et synthétiques de la population du sol.

Nous retrouverons donc ici les facteurs habituels influant sur les activités microbiennes ; mais certaines particularités sont à noter :

1° le rôle essentiel de la végétation, qui fournit une partie des matières premières impliquées dans les synthèses humiques, en même temps qu'elle exerce ses effets habituels comme source d'énergie, de nutriments et de constituants électifs ;

2° des conditions favorables à une activité biologique intense peuvent limiter l'humification en exaltant la minéralisation. Mais réciproquement des facteurs défavorables à cette activité freinent les synthèses humiques en réduisant la transformation des débris organiques et en limitant ainsi la fourniture des matériaux de l'humus ;

3° on a dit plus haut que la dégradation des cadavres végétaux, comme les synthèses microbiennes, fournissaient des produits préhumiques, immatures, relativement fragiles et dont la transformation en substances humiques reste mystérieuse. Elle semble reposer, encore une fois, sur des actions biologiques, mais sûrement aussi sur des processus abiotiques, physiques et chimiques.

I. — INFLUENCE DE LA VÉGÉTATION

La végétation est le facteur essentiel déterminant, à long terme, la masse et la qualité des humus (DUCHAUFOR, 1965) mais si des rapports, trop nombreux pour qu'on s'y réfère ici en détail, permettent de se faire une idée générale et approchée de son influence, nous connaissons encore très mal les mécanismes par lesquels cette dernière peut s'exercer.

L'analyse microbiologique des litières, des pailles, des tourbes, montre que les cadavres de, pour ainsi dire, chaque espèce végétale sont colonisés par des successions propres, spécifiques au début et déterminées par la nature des substrats disponibles comme, secondairement, par les caractéristiques du sol et du climat (cf. par exemple, SOWDEN et IVARSON, 1959 ; KENDRICK et BURGESS, 1962 ; MANGENOT, 1966c).

L'humification est déterminée, des points de vue qualitatif et quantitatif, par cet ensemble de facteurs biotiques, physiques et chimiques, suivant des lois dont on

imagine la complexité. Nous connaissons des bilans grâce à des travaux dont l'intérêt pour l'écologie ou l'agronomie est certain mais d'où les préoccupations microbiologiques sont absentes ou presque.

Nous nous bornerons donc à donner des principes généraux suivis de quelques exemples.

a) La végétation intervient de différentes manières :

1° Elle influe sur les conditions microclimatiques régnant dans le sol : sur sa température en limitant l'insolation et les mouvements atmosphériques ; sur son bilan hydrique en participant à l'évapotranspiration, en facilitant le drainage ; sur sa structure parce que les racines pénètrent plus ou moins profondément dans le profil et aussi par les substances qu'elles excrètent ; enfin sur l'atmosphère du sol par la respiration des organes souterrains.

2° Elle conditionne en partie les activités biologiques du sol :

— par sa productivité primaire, c'est-à-dire par la masse d'aliments qu'elle met à la disposition de la population édaphique ;

— par la composition chimique de ses débris qui agit de façon élective sur la nature, l'équilibre, les successions de la microflore et de la faune du sol.

3° Suivant la règle édictée plus haut, la fourniture d'humus est déterminée par la labilité des matériels végétaux, ce qui règle leur vitesse de minéralisation, et par leur aptitude à se transformer en matériel humifié.

L'aptitude à l'humification est généralement mesurée par l'évolution du taux de C ou d'N à la suite d'un « traitement » : fumure, culture continue ou rotation, mise en jachère, en prairie, défrichage. Pourtant, en toute rigueur, ces taux renseignent sur la teneur en matière organique mais non sur la richesse en humus au sens strict ; comme l'écrit JACQUIN (1963b) la tourbe enrichit le sol en C de façon durable alors qu'elle s'humifie très lentement. Les aiguilles de la plupart des Conifères, les Mousses, laissent des résidus semi-transformés conduisant à des humus bruts très riches en C, mais dont le taux d'humification est médiocre.

b) Les principaux facteurs influant sur le potentiel humique des débris sont :

1° La richesse en N : un C/N bas, inférieur à 25, accélère la décomposition et limite par conséquent les possibilités d'humification ; mais un C/N élevé ne favorise pas celle-ci, il freine l'évolution des débris végétaux et conduit à l'accumulation d'humus libre. Un C/N de 20 est plus favorable à la synthèse d'acides humiques stables qu'un C/N de 50 (DU PLESSIS et PAULI, 1967). La cellulose ne fournit des « acides humiques », *in vitro*, que si le milieu reçoit des nitrates (LOZANO-CALLE et coll., 1968). Les extraits bruts des organes végétaux riches en N fournissent facilement des complexes sombres (ALEKSANDROVA, 1966).

2° Le rapport entre constituants labiles et récalcitrants. Les débris peu lignifiés et riches en pentosanes et en cellulose sont dégradés plus rapidement que les tissus fortement incrustés de lignine ou de subérine ; une teneur élevée en constituants solubles est favorable à une décomposition rapide.

Les matériels protégés par une cuticule épaisse ou recouverte de cires sont attaqués plus vite s'ils ont été extraits préalablement par l'alcool-benzène.

On considère souvent que l'aptitude à donner naissance à des composés humiques est liée à la richesse en lignine. Par exemple, SPRINGER et LEHNER (1952) classent les matériels qu'ils ont étudiés dans l'ordre suivant : engrais vert < paille < feuilles de hêtre < aiguilles d'Epicéa < tourbe.

Mais c'est aussi un ordre de récalcitrance croissante et d'activité biologique décroissante et nous savons ce qu'il faut entendre de l'humification de la tourbe ou des aiguilles de Conifères.

3° La richesse des tissus en substances biologiquement actives, soit en raison de leurs propriétés antibiotiques (antibiotiques des végétaux supérieurs qui sont bien souvent des substances aromatiques), soit parce qu'elles inhibent les enzymes extracellulaires des micro-organismes (pectinase, cellulase) ou se combinent aux constituants pariétaux et aux protéines pour former des complexes récalcitrants : c'est le cas des tannins (BENOIT et STARKEY, 1968).

Mais les composés aromatiques des tissus sont des précurseurs des substances humiques, précurseurs dont les aptitudes à l'oxydation et à la condensation sont inégales, non seulement suivant leur nature, mais aussi suivant celles des autres composés présents. Souvent les plantes ligneuses en sont plus riches que les espèces herbacées, les plantes spontanées que les variétés cultivées.

Aucun de ces facteurs n'est à lui seul déterminant pour la marche de l'humification ; suivant les cas particuliers, l'un d'entre eux peut être prépondérant, mais c'est tous ensemble et concurremment avec les conditions climatiques, les caractères du sol et de sa microflore, les interventions humaines, qu'ils déterminent la quantité et la qualité de l'humus formé.

Il ne faut donc pas s'étonner des nombreuses contradictions et exceptions que l'on peut rencontrer dans la littérature.

c) Quelques exemples :

1° On admet que les débris de végétaux jeunes, riches en N et en constituants solubles, pauvres en lignine, sont rapidement minéralisés et enrichissent peu le sol en C. C'est le cas des engrais verts. Leur bilan peut même être négatif en raison des effets d'activation (cf. d).

2° Les cultures annuelles sont moins favorables que les herbes vivaces et, du fait des exportations de récoltes, elles risquent d'appauvrir le sol alors que la prairie l'enrichit.

Mais dans le cas des formations anthropogènes que sont les cultures, d'autres influences viennent masquer celles de la végétation ; si la prairie est plus favorable que les céréales et surtout les plantes sarclées, c'est aussi parce qu'elle supprime les traitements mécaniques et qu'elle modifie la structure grâce à son système racinaire superficiel.

3° Dans les régions tropicales, pour des conditions climatiques et édaphiques semblables, les humus formés sont bien différents si l'on compare forêt et savane. Dans la première, les acides humiques relativement peu abondants sont localisés dans les couches superficielles du sol alors que les acides fulviques sont dominants et se retrouvent, seuls, en profondeur. Sous la végétation herbacée de la savane, la répartition de la matière organique est plus uniforme, les acides humiques plus abondants et la richesse totale du profil en humus souvent un peu plus élevée (AUBERT, 1961).

4° Dans les expériences de PAULI (1968), la végétation spontanée du veldt se montre supérieure à toutes les autres pour la quantité et la qualité des substances humiques formées. La monoculture du Maïs est celle qui donne les moins bonnes valeurs, tandis que certaines Graminées fourragères se classent honorablement. Les résultats d'un assolement, l'influence favorable de la prairie varient suivant les espèces qui les constituent.

5° L'influence de l'espèce apparaît encore si l'on considère les Légumineuses ; il arrive que le Trèfle enrichisse autant le sol que ne le fait la paille malgré des C/N respectifs de 14 et plus de 100 (DUCHAUFOR et JACQUIN, 1957). La Luzerne, au contraire, ne laisse pour ainsi dire aucune substance humique (tableau XLVIII).

TABLEAU XLVIII. — EVOLUTION DE LA TENEUR EN C, EN N ET EN ACIDES HUMIQUES D'UN SOL CALCAIRE QUATRE MOIS APRÈS ENFOUISSEMENT DE MATIÈRES ORGANIQUES (Résultats en ‰ de sol sec à l'air) (JACQUIN, 1963b)

	GAINS OU PERTES D'N	C	C/N	ACIDES HUMIQUES
Témoin	—	21,7	10,33	0,71
Paille	+0,23	26,1	11,15	0,97
Luzerne	-0,34	22,0	11,11	0,71
Trèfle	+0,14	24,6	10,25	0,98
Paille+Luzerne	-0,23	24,2	11,52	0,76
Paille+Trèfle	+0,36	25,9	9,88	1,08

d) *Effet d'activation ou priming action (priming effect)*. — Si l'on ajoute à un sol du glucose ou des débris végétaux frais, la vitesse de minéralisation de la matière organique native de ce sol est modifiée. C'est l'effet d'activation qui peut être positif, c'est-à-dire entraîner une accélération, ou négatif, c'est-à-dire qu'il ralentit la dégradation des réserves organiques.

Cet effet a été entrevu il y a déjà bien longtemps sur le vu de bilans de l'humus, mais il n'a pu être étudié de façon rigoureuse qu'à partir du moment où l'on a eu recours à des matériels végétaux marqués sur le C. Même alors, l'expérimentation est délicate et les données disponibles sont contradictoires, les unes niant l'activation, les autres la décrivant négative ou positive suivant les sols et leur richesse en C, suivant la nature des apports, etc. JENKINSON (1966) a discuté ces points et montré que divers mécanismes pouvaient simuler l'effet d'activation.

Il ne semble pas que sa réalité puisse être mise en doute. *In vitro*, MACURA et ses collaborateurs (1962) ont mis en évidence une action certaine du glucose se traduisant par la libération, à partir du sol, de pentoses, d'hexoses, d'oligosides, d'acides aminés issus d'une mobilisation de la matière organique native. Cet effet se manifeste surtout lors d'apports continus ou faibles et répétés. On peut supposer qu'il s'agit d'un phénomène biologique, peut-être lié à la levée de la fongistase et à la stimulation de la microflore dont les synthèses enzymatiques seraient exaltées.

On se souviendra aussi du rôle joué par les sucres dans la décomposition *in vitro* des acides humiques. L'incubation en présence de glucose paraît modifier les activités métaboliques de la microflore du sol (KUNC et MACURA, 1966).

Dans les conditions naturelles, un apport de matière organique labile semble entraîner une mobilisation des réserves humiques. Ce peut être utile lorsque ces dernières sont assez abondantes et forment en quelque sorte une épargne gelée (cas de certains sols calcaires). Si le niveau de l'humus est relativement bas, des pertes peuvent se produire et entraîner à long terme un épuisement du sol. Pour SAUERBECK (1966), ce phénomène est compensé par l'accumulation de nouvelles matières organiques ; il correspond à une sorte de rajeunissement de l'humus qui serait bénéfique.

II. — LE CLIMAT

Il intervient d'une part en qualité de facteur déterminant les caractères de la végétation et sa productivité : cette dernière est maximale dans la forêt équatoriale, minimale dans les déserts arides ou glacés.

Il influe d'autre part directement sur l'intensité des activités biologiques, sur leur type et sur leurs fluctuations saisonnières.

a) **Pluviosité et température annuelles.** — Si l'on compare (JENNY, 1965) les données concernant un certain nombre de points situés en Inde sur l'isotherme 24 °C ou à son voisinage (23-26°) et dont les pluviosités sont variables, on constate que celles-ci sont liées au taux de C dans les 20 cm supérieurs du sol par une relation logarithmique directe. Par conséquent, dans les régions relativement sèches, de légères différences pluviométriques conduisent à de grandes variations de la productivité et de la matière organique du sol. Au contraire, dans les régions perhumides, d'autres facteurs

sont limitants (fig. 72). Dans ce dernier cas, la teneur en matière organique est en relation inverse avec la température moyenne annuelle entre $+10$ et $+30$ °C, ce qui correspond, sans doute, à une activation des processus minéralisateurs sous les climats chauds et pluvieux.

Les problèmes envisagés par JENNY sont relativement simples parce que les différences climatiques sont considérables et se traduisent par des effets importants. Mais il est hors de doute que, dans les régions tempérées, aux climats pourtant moins tranchés, les caractéristiques pluviothermiques influent aussi sur l'humification ; on sait, par exemple, que le taux d'humus tend à y diminuer avec la latitude.

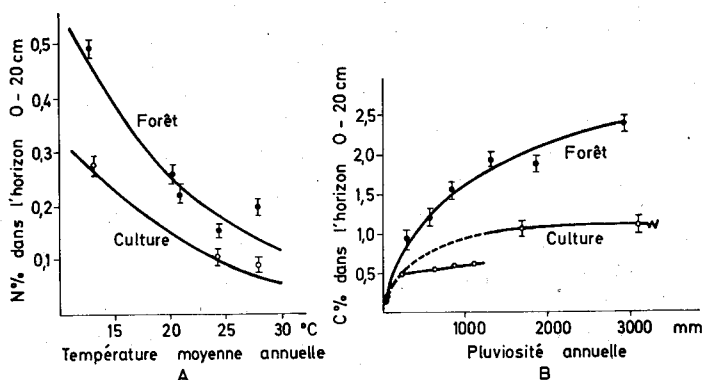


FIG. 72. — Influence de la température sur la teneur en N (A) et de la pluviosité sur la teneur en C (B) dans le sol (JENNY, 1965).

b) **Latitude et altitude.** — LAUDELOUT et ses collaborateurs (1960) ont montré que l'influence de la température moyenne annuelle s'exerçait différemment suivant la latitude et l'altitude. L'N du sol et la teneur en humus à laquelle il est lié sont deux à trois fois plus sensibles à l'effet de la température sous les tropiques (Colombie) qu'en Californie (JENNY, 1965). Cette différence est encore plus marquée si l'on considère les massifs montagneux, de sorte que, à température et pluviosité égales, les sols de la zone équatoriale sont plus riches en matière organique que ceux de la zone tempérée.

La minéralisation est pourtant intense dans la forêt pluviale, toujours chaude et humide et où semblent exister des micro-organismes déshumifiants absents des terres de la zone tempérée (BACHELIER, 1963). L'importance plus considérable des chutes de litière ne peut suffire à expliquer ce qui paraît être une différence essentielle dans la dynamique de l'humus. Peut-être coïncide-t-elle avec la « frost-free line » : dans les régions où la gelée est inconnue, les rythmes de la productivité et de la minéralisation sont bien différents de ce que l'on rencontre lorsqu'il existe un hiver. Le froid ne ralentit pas seulement la décomposition : ce sont des peuplements bien différents que l'on rencontre sur une même litière placée à $+2$ ° ou à $+20$ °C.

Il faudrait, sans doute, envisager aussi l'existence d'une « ligne de sécheresse physiologique » séparant les tropiques secs et humides (DOMMERGUES, 1963b).

Il n'est pas surprenant d'ailleurs que la considération des seules données annuelles fournisse des explications incomplètes.

c) **Les valeurs extrêmes : gel et dessiccation.** — Un gel prolongé augmente la stabilité des substances humiques et des alternances de gel et de dégel la diminuent (BIRECKI et GASTOL, 1964).

La dessiccation favorise leur polymérisation, surtout en présence de colloïdes macromoléculaires ou à micelles volumineuses.

Dans des sols d'humidité constante, sur sol perméable, l'humus comporte principalement des formes peu condensées et mobiles : c'est le cas sous le climat atlantique (DUCHAUFOR et JACQUIN, 1959). Au contraire, dans les régions continentales, le gel de l'hiver, la sécheresse en été, bien que réduisant l'activité biologique, favorisent les condensations et l'établissement d'un rapport acides humiques/acides fulviques élevé (zone des steppes, zone subtropicale sèche).

Dans les sols zonaux de l'URSS, l'activité biologique augmente avec la température du nord vers le sud, pour atteindre un maximum dans la zone des sierozems. En même temps les périodes pendant lesquelles elle peut s'exercer diminuent par suite de l'allongement des périodes sèches. Le taux d'humus est maximal dans les chernozems, minimal dans les podzols au nord, en raison de l'humidité persistante et dans les sierozems au sud en raison des températures plus clémentes (KONONOVA, 1961).

Dans les zones tropicales, l'humus, qui se forme dans des conditions toujours ou presque toujours humides et chaudes, est pâle, mobile et les acides fulviques y sont dominants. Les produits formés sont même parfois entraînés jusqu'aux rivières qui roulent une eau brune. Un phénomène semblable se rencontre dans une région au climat bien différent : la région du Cap à caractère méditerranéen, mais sans gelée ; l'eau qui s'écoule des formations à Restionacées et Ericacées a la teinte du café noir et provoque, à la longue des carences en calcium chez les personnes qui en boivent habituellement.

Sous les tropiques, l'existence d'une saison sèche marquée assure généralement la stabilité des humus. Au retour des pluies, l'activation biologique décrite par BIRCH (cf. p. 420) provoque bien une certaine déshumification ; mais le phénomène est limité à une brève période et parfois ne s'exprime pas nettement dans le bilan humique.

III. — LE SOL

a) **Texture.** — Nous avons appris qu'il existait, pour un sol donné, une teneur maximale en humus ; celle-ci paraît être en relation avec la teneur de ce sol en colloïdes minéraux (fig. 73) ; les relations entre la matière organique et les argiles sont

encore imparfaitement connues (GREENLAND, 1965) mais il est certain qu'il y a là un facteur important de l'humification.

Toutes autres conditions demeurant semblables, la décomposition des débris végétaux et la synthèse d'humus sont plus réduites sur sol léger, et les produits formés sont mobiles pour une large part.

Les valeurs des argiles sont d'ailleurs inégales et dépendent de leur capacité d'adsorption : la montmorillonite est très active, la kaolinite très peu. Si l'on imprègne d'extrait végétal un mélange de sable et de bentonite, cette dernière retient une fraction des matières organiques solubles et forme avec celle-ci des agrégats sombres et d'une grande stabilité.

Cependant, selon SPRINGER et NETZCH-LEHNER (1966), en vase de végétation, l'effet stabilisant primordial serait dû à l'ion Ca^{++} et serait renforcé par une quantité modérée de marne.

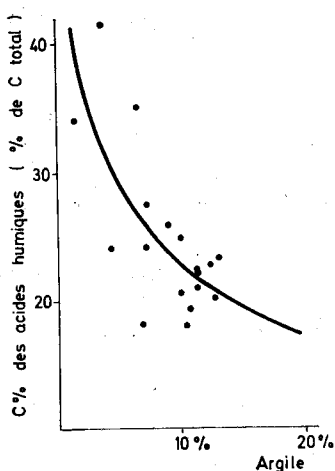


FIG. 73. — Relation entre la teneur en acides humiques et la texture (HOFFMANN, 1961).

b) Richesse en bases. — Un pH relativement élevé favorise les activités minéralisatrices et humifiantes de microflore où dominent les Bactéries et F. HOFFMANN (1961) a mis en évidence les corrélations directes existant entre le pH d'une part, la qualité et la quantité de l'humus d'autre part.

De plus l'ion Ca^{++} exerce une action floculante vis-à-vis des acides humiques, ce qui contribue à leur maturation (COULSON et coll., 1960). Enfin dans certains sols calcaires les particules organiques sont stabilisées par enrobage dans une fine pellicule de CaCO_3 .

Dans la zone tempérée, la saturation conduit aux rendzines et aux chernozems ; sous les tropiques, les sols forestiers formés sur roche mère basique sont plus riches en matière organique que ceux formés sur un substratum acide. Par contre, lorsque la sécheresse limite la productivité primaire, la minéralisation devient le processus dominant : c'est le cas des sols châtaîns et des sierozems.

c) Aération et humidité. — La teneur en eau la plus favorable à l'humification se situerait, comme pour la plupart des activités de la microflore, aux environs de 60 % de l'humidité équivalente. Toutefois les conditions optimales pour l'accumulation des substances humiques pourraient varier suivant les matériels (MYSKOW, 1965).

La saturation du sol ou sa submersion, la dégradation de la structure sont défavorables aux synthèses humiques puisque celles-ci comportent des oxydations. Aussi les horizons gleyifiés sont-ils extrêmement pauvres en humus, tandis que dans les couches plus superficielles une humidité excessive, limitant et déséquilibrant l'activité biologique, entraîne l'accumulation d'une matière organique incomplètement trans-

formée ; les quantités d'humus sont limitées et la qualité des produits est médiocre (SPRINGER et WAGNER, 1959). Même dans la zone intertropicale un drainage insuffisant peut conduire à la formation d'humus brut ou de tourbe.

Pourtant le rendement de l'humification rapportée au taux de minéralisation est parfois plus élevé en anaérobiose qu'en aérobiose (SPRINGER et LEHNER, 1952). On se rappellera d'ailleurs qu'une aération modérée favorise la production de mélanines dans les cultures pures en présence de phénol.

Si les synthèses humiques se produisent surtout dans les couches supérieures du sol, c'est aussi à ce niveau que la minéralisation est la plus active. Les conditions optimales pourraient donc être microaérophiles (MISHUSTIN et coll., 1964) ou correspondre à des alternances d'anaérobiose et d'oxydation. SCHAEFER (1963a) a étudié en Alsace une succession d'hydromorphie décroissante : la condensation des acides humiques est faible en milieu immergé ; l'exondation favorise d'abord leur dégradation puis, quand le milieu devient plus sec, la formation de substances plus évoluées et plus stables caractérise l'anmoor. Enfin, l'évolution peut conduire au mull avec diminution des quantités d'humus.

SCHAEFER (1966b) attribue la vitesse d'humification élevée que l'on observe dans le *Caricetum* de la plaine du Rhin aux alternances de submersion et d'exondation du milieu. NOVAK (1966) arrive à des conclusions analogues en étudiant la synthèse d'humus à partir du glucose.

IV. — L'INTERVENTION HUMAINE

Le défrichage et la mise en culture entraînent toujours une diminution notable du taux de matière organique. En Europe, un assolement judicieux peut retarder le phénomène mais, inéluctablement, la teneur en C s'abaisse pour atteindre, en quelques décades, le niveau des sols cultivés de la même région. Dans la zone intertropicale, l'alternance d'exploitation et de jachère peut, dans certaines conditions, maintenir un niveau élevé de la matière organique (cf. ci-dessus). Par exemple, au Sénégal, sur des sables pauvres, une jachère de 4-5 ans suivie d'enfouissement de la végétation permet, avec une fumure N-P convenable, de conserver la fertilité du sol et se montre supérieure aux engrais verts (BONFILS, 1963).

Outre cet effet quantitatif défavorable, la mise en culture exerce une action favorable sur la qualité de l'humus peut-être parce que le travail mécanique mêle les débris végétaux et les colloïdes minéraux ; en tout cas la matière organique se trouve intimement liée aux argiles. Le labour augmente la proportion des acides humiques et de l'humine dans l'humus, surtout lorsque celui-ci était d'un type peu évolué (podzols, chernozems lessivés) ; enfin les acides humiques sont plus condensés (cf. par exemple BOGDANOV, 1962 ; ZAIMOV et FIL'KOV, 1963).

Ainsi, dans l'ensemble, l'humus des terres cultivées est d'un type plus évolué que celui des sols vierges, mais il est aussi moins abondant et il risque, dans les sols de longue culture, de s'abaisser au-dessous d'un niveau critique.

Les raisons de ces différences sont incomplètement connues et, sans doute, nombreuses. Elles ont été discutées par SWABY (1966) et WEHRMANN (1967) et nous les envisagerons brièvement.

La mise en culture d'un sol bouleverse ses activités biologiques et détruit l'équilibre naturel préexistant.

Le remplacement de la végétation spontanée par une culture modifie la quantité, la nature et la composition des débris apportés au sol ; ces derniers sont désormais des fragments de plantes herbacées, souvent pauvres en précurseurs de l'humus (lignine, tannins, phénols solubles).

— Le travail mécanique accélère la décomposition des débris végétaux ; de nombreux travaux montrent que les matières organiques enfouies et surtout mêlées au sol sont décomposées plus rapidement que des litières superficielles.

La profondeur de l'enfouissement entre évidemment en ligne de compte et les diverses méthodes de labour ont des effets différents. Un enfouissement léger conduit à une minéralisation intense ; assez profond, il crée les conditions microaérophiles favorables à l'humification. Le roulage limitant la vitesse de diffusion de l'oxygène agit dans le même sens.

— Le travail du sol modifie encore les conditions de température et d'humidité ; il brise les agrégats et mobilise ainsi les substances organiques qui s'y trouvaient incluses.

Ce bouleversement des conditions du milieu entraîne celui de la microflore où les organismes unicellulaires sont avantagés, en particulier les Bactéries métabolisant la cellulose, les autres glucides, les nitrates.

L'activité biologique globale est accrue ainsi que l'intensité du dégagement de CO_2 par le sol. Cet effet est limité dans le temps, mais se renouvelle à chaque façon culturale pendant une période plus ou moins longue suivant la température.

Ces deux ordres de processus (diminution des apports, à la fois en quantité et en qualité, stimulation de l'activité minéralisatrice) expliquent, au moins en partie, le déséquilibre du bilan humique. Dans le cas des cultures annuelles, le déficit est variable suivant les espèces, le rendement, le mode d'exploitation. Il arrive même que gains et pertes s'équilibrent ; le résultat final peut être relié à la masse des résidus par l'intermédiaire du coefficient isohumique ; le travail de GOUERE (1956) est un exemple des supputations auxquelles on peut se livrer en ce domaine. Les fumures minérales peuvent, en accroissant la masse des résidus de culture, augmenter les restitutions et contribuer ainsi au maintien du taux d'humus ; mais leurs effets sont contradictoires : tantôt elles semblent stimuler la décomposition, tantôt elles paraissent conserver la matière organique.

CONCLUSION. — Nous venons de voir, en passant très brièvement en revue les facteurs de l'humification, combien ils étaient nombreux et complexes. Le problème de l'humus fait appel à l'ensemble de nos connaissances d'ordre physique et chimique concernant les fractions minérales et organiques du sol, les constituants des végétaux supérieurs et ceux des micro-organismes. Il exige encore des études de productivité aussi bien que l'analyse des mécanismes minéralisateurs et l'on serait tenté d'y voir la somme et le couronnement de l'écologie microbienne dans le sol.

L'importance pratique de l'humification est considérable et a pu être comparée à celle de la photosynthèse. Il est en effet indispensable que la transformation des tonnes de débris végétaux apportés chaque année à chaque hectare de terre fertile suive des voies convenables évitant l'accumulation de matière organique *inerte*, dérobée aux cycles biogéochimiques et dans lesquels l'N serait immobilisé, réduisant ainsi la fertilité du sol (tourbières, par exemple). Il n'est pas moins indispensable, dans l'état de nos méthodes agricoles, qu'une partie de ces débris subsiste profondément transformée pour constituer, sous forme de complexes argilo-humiques, un réservoir régulateur libérant l'N nécessaire aux végétaux supérieurs aux époques où ceux-ci en réclament. La présence de cet humus conditionne encore la structure des sols, leur capacité d'échange, etc. Si une exploitation inconsidérée amène les réserves humiques à un taux trop faible, des altérations se manifestent ainsi que des baisses de rendement. Or la régénération du sol est extrêmement difficile, longue et coûteuse.

Mais si les données du problème sont assez bien précisées, l'explication des faits expérimentaux est encore très incomplète, alors qu'elle conditionne la prévision de ceux-ci et détermine par conséquent les interventions humaines nécessaires pour assurer une évolution favorable des sols. Nos connaissances n'ont guère dépassé le stade de l'écologie descriptive.

On terminera cet exposé par le rappel d'un problème classique, mais qui illustre bien la complexité des phénomènes naturels.

Il est facile de distinguer les deux types extrêmes d'humus forestiers *mor* et *mull*. Le premier évoque ces tapis épais de matière organique noire peuplée de Mousses et de Myrtilles que l'on rencontre, en particulier, sous les Résineux dans les régions froides. Le second, c'est le sol homogène, modérément humifère, des forêts caducifoliées.

Il est courant de dire que le *mor* correspond à une activité biologique déséquilibrée, caractérisée par la dominance des Champignons dont les hyphes, en partie fossilisées, abondent et contribuent à donner à l'humus une texture fibreuse. Dans le *mull*, au contraire, les activités bactériennes sont plus intenses et les Vers de terre sont généralement nombreux, ce qui explique la formation de complexes organo-minéraux favorables. Mais l'analyse causale de ces phénomènes n'est pas définitive malgré les nombreuses études qui lui ont été consacrées. C'est qu'une multitude de facteurs interviennent : équilibre acide-base, aération et perméabilité du sol, climat, végétation, et que ces divers facteurs interfèrent entre eux. L'acidité, le froid, sont mieux tolérés par les Résineux dont les litières contribuent à réprimer l'activité de la faune ; sans

l'intervention mécanique de celle-ci, les débris s'accumulent en surface, les hyphes fongiques subsistent, immobilisant une partie de l'N présent. Le déficit en bases, en N mobilisable, sélectionnent un certain type de végétation et modifient la composition chimique des individus tolérants (Hêtres) ; la richesse en polyphénols des litières conduit à des complexes tannés où la cellulose est protégée, dont l'N est difficilement libéré.

Ces quelques aspects suffisent à donner l'impression qu'un facteur ou un complexe de facteurs — peut-être pas toujours le même dans tous les milieux — a initié une sorte de cercle vicieux dans lequel s'enferme l'écosystème, à moins qu'une intervention étrangère ne vienne le rompre : coupe à blanc, brûlis, chaulage, fumure, modification artificielle du peuplement.

CHAPITRE X

MODIFICATIONS D'ORIGINE MICROBIENNE DE LA COMPOSITION DE L'ATMOSPHÈRE DU SOL ET DU POTENTIEL D'OXYDO-RÉDUCTION

1° Modifications de la composition de l'atmosphère du sol et de la teneur en gaz des solutions du sol

La composition de l'atmosphère du sol est non seulement sous la dépendance de facteurs physiques mais aussi sous la dépendance de l'activité d'organismes vivants (plantes, microfaune, micro-organismes) qui produisent ou consomment de l'oxygène ou du gaz carbonique. La part des micro-organismes dans la production ou la consommation de ces gaz est difficile à déterminer *in situ* ; mais tous les auteurs sont d'accord pour admettre qu'elle est importante en ce qui concerne la consommation d'oxygène et le dégagement de gaz carbonique.

La production microbienne d'oxygène est limitée aux micro-organismes photosynthétiques dégageant de l'oxygène — donc aux Algues —, les Bactéries photosynthétiques étant exclues.

La production microbienne de gaz carbonique dans le sol peut atteindre des valeurs très élevées lorsque la microflore dispose d'un stock abondant de matière organique métabolisable et que les autres facteurs (température, humidité, pH) sont favorables à son activité. Dans ces conditions, la teneur en CO_2 de l'atmosphère du sol peut atteindre 10, 20 ou même 30 % en volume (cf. p. 428).

Dans les solutions du sol, où les phénomènes de diffusion sont considérablement réduits, les modifications d'origine microbienne de la teneur en gaz dissous sont encore plus marquées, car les micro-organismes épuisent très vite les réserves en oxygène dissous : c'est à la consommation microbienne très active de l'oxygène dissous que YURKEVICH et ses collaborateurs (1966) attribuent l'absence très fréquente d'oxygène dans les eaux de sols marécageux en forêt, ce qui n'est pas sans présenter des inconvénients sérieux pour la végétation.

En dehors du gaz carbonique, les micro-organismes peuvent produire en milieu hydromorphe d'autres gaz tels que N_2 , N_2O , H_2 , CH_4 , H_2S , ce dernier s'avérant très toxique lorsqu'il reste libre (cf. p. 578).

2° Modification du potentiel d'oxydo-réduction

Le potentiel d'oxydo-réduction (Eh ou Uh), qui exprime le pouvoir oxydant ou réducteur du sol, est fonction de la teneur en O_2 des solutions et de l'atmosphère du sol ; il est aussi régi par l'état d'équilibre de certains systèmes redox dont le plus important est le système $Fe^{+++} Fe^{++}$ (TAKAI et KAMURA, 1966). On sait d'autre part que, lorsque le sol est submergé (sol hydromorphe) et qu'il renferme des quantités suffisantes de substrats métabolisables, la microflore non photosynthétique épuise rapidement les réserves du sol en oxygène, puis réduit le manganèse tétravalent en manganèse bivalent et le fer ferrique (Fe^{+++}) en fer ferreux (Fe^{++}) (cf. p. 406). Il en résulte une baisse du Eh d'autant plus rapide que la quantité de matière organique métabolisable à la disposition des micro-organismes est plus importante (fig. 74) et que le sol ne renferme pas des quantités importantes de substances retardant la baisse du Eh, telles que NO_3^- , MnO_2 (YUAN et PONNAMPERUMA, 1966).

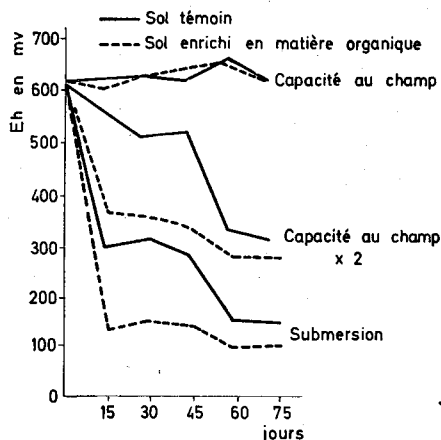


FIG. 74. — Influence de l'humidité et de la teneur du sol en matière organique sur le potentiel d'oxydo-réduction (Eh) dans un sol limoneux (SAVANT et ELLIS, 1964).

On a démontré d'autre part que les Bactéries sulfato-réductrices induisent, par la production d' H_2S , des potentiels d'oxydo-réduction extrêmement négatifs (SENEZ, 1962). Inversement les Algues élèvent le Eh du milieu (BAAS BECKING et coll., 1960) : c'est par ce processus que *Chlorella vulgaris* inhibe l'activité bactérienne ; une réduction artificielle du Eh lève complètement cet effet toxique de l'Algue sur les Bactéries (MAKSIMOVA et FEDENKO, 1965).

CHAPITRE XI

THERMOGÉNÈSE MICROBIENNE

Par thermogénèse microbienne, on entend la production de chaleur par les réactions exothermiques d'origine microbienne. Dans le sol, ces réactions induisent une élévation de température généralement très faible, mais qui devient plus importante dès que la microflore tellurique dispose d'un substrat énergétique en quantité suffisante.

1° Mise en évidence de la thermogénèse microbienne

Pour mettre en évidence et mesurer la thermogénèse microbienne dans le sol, il est nécessaire, dans la plupart des cas, d'enrichir au préalable les échantillons à étudier avec un substrat énergétique (glucose, saccharose, poudre de Luzerne, par exemple) apporté à une dose de l'ordre de 0,1 à 1 %. Il est recommandé d'isoler les échantillons dans des récipients du type Dewar ou en mousse de polystyrène expansé. On dispose actuellement de sondes thermiques (thermistors) bien au point pour l'enregistrement des températures.

Opérant sur un sol alluvial limono-sableux, CLARK et ses collaborateurs (1962) ont observé des élévations de température de l'ordre de 5,3 °C dans des échantillons de 3,3 kg enrichis en poudre de Luzerne à la dose de 1 % et incubés dans des récipients isolés thermiquement ; dans des échantillons beaucoup plus importants (39,6 kg) mais non isolés, l'élévation de température au centre des blocs de sol pour un même enrichissement était de l'ordre de 1,5 °C.

2° Rôle dans le sol de la thermogénèse microbienne

La thermogénèse microbienne est, en général, trop discrète pour modifier significativement la température du sol ; toutefois, dans certains microhabitats privilégiés (rhizosphère ou sites d'accumulation de substrats facilement métabolisables), le dégagement de chaleur pourrait être suffisant pour modifier la diffusion des gaz et les mouvements de la vapeur d'eau à l'intérieur d'un profil : on a pu en effet déceler *in vitro* qu'une thermogénèse importante induisait des pertes en eau très sensibles dans les échantillons du sol (CLARK et coll., 1962).

3° Evaluation de l'activité microbienne globale des sols par la mesure de la thermogénèse

La mesure du dégagement de chaleur constitue une méthode très rapide d'évaluation de l'activité biologique du sol qui, jusqu'à présent, a été peu utilisée bien qu'elle ait déjà donné des résultats intéressants (BARTHOLOMEW et NORMAN, 1944). Nous citerons par exemple l'étude comparative effectuée par LEMÉE et ses collaborateurs (1958) sur quatre humus forestiers de la plaine d'Alsace enrichis en glucose (fig. 75 A) ou en

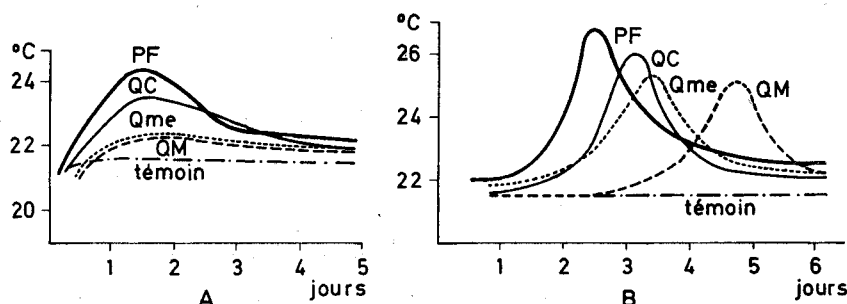


FIG. 75. — Thermogénèse dans quatre types d'humus forestiers enrichis en glucose (A) ou en glycocolle (B) (LEMÉE et coll., 1958). PF, mull grumeleux de sol brun faiblement lessivé, sous *Pruneto-Fraxinetum*; QC, mull de sol brun faiblement lessivé, sous *Querceto-Carpinetum*; Qme, mor fibreux sur sol podzolique, sous *Quercetum medioeuropaeum*; QM, mor compact sur mor podzolique, sous *Quercetum medioeuropaeum molinietosum*.

glycocolle (fig. 75 B). L'effet thermogénique du glucose est inférieur à l'effet de l'acide aminé mais le classement des humus est identique : s'avèrent très actifs, les deux mulls (PF, QC) avec une supériorité nette pour le mull grumeleux (PF) ; les deux mors (Qme, QM) se différencient nettement par leur activité beaucoup plus réduite.

4° Cas des fumiers et composts

Nous rappellerons ici, pour mémoire, que dans les fumiers et composts qui constituent des substrats particulièrement riches en substances métabolisables, les réactions exothermiques d'origine biologique peuvent faire monter considérablement la température puisque celle-ci atteint couramment 60, 65, 70 °C et même plus parfois. Cette élévation de température élimine les germes mésophiles qui sont remplacés par les germes thermophiles.

CHAPITRE XII

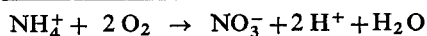
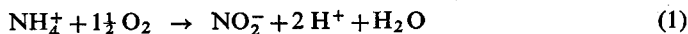
MODIFICATIONS DU pH D'ORIGINE MICROBIENNE

La microflore influe sur le pH du sol par l'intermédiaire de ses produits de métabolisme qui peuvent être acidifiants (acides minéraux ou organiques) ou alcalinisants (ammoniac, par exemple). Si la production de ces substances est abondante et si le pouvoir tampon du sol considéré est faible, les modifications du pH peuvent être de l'ordre d'une demi-unité ou même de plusieurs unités. Mais, bien souvent, ces modifications se manifestent seulement à l'échelle du microhabitat et le pH *mesuré*, c'est-à-dire déterminé sur pâte ou suspension de sol, est pratiquement inchangé. Il est cependant possible d'en déceler l'existence à l'aide d'artifices expérimentaux tels que le suivant. Une gélose à l'extrait de sol, sans autre apport de substrat quel qu'il soit, et contenant un indicateur coloré de pH, est ensemencée avec une suspension-dilution de sol convenable ; après incubation de quelques jours, on constate autour de nombreuses colonies un virage de l'indicateur, qui correspond soit à une acidification, soit à une alcalinisation du milieu. Il ne sera pas question ici de ces modifications très localisées du pH, mais des modifications portant sur toute la masse du sol.

I. — ACIDIFICATION D'ORIGINE MICROBIENNE

1° Acidification par nitrification

La nitrification de l'azote ammoniacal acidifie le sol car elle libère des ions H^+ .



L'importance de cette acidification dépend bien entendu du pouvoir tampon du sol, mais aussi :

— de l'activité de la microflore nitrifiante ;

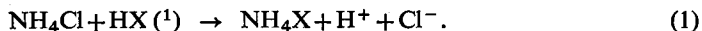
- de la nature du support de l'azote ammoniacal ;
- de la dose du composé ammoniacal.

a) **Activité de la microflore nitrifiante.** — Cette activité est fonction non seulement de la richesse du sol en substrat ammoniacal, mais aussi dans une grande mesure du pH du sol, de l'aération, de la présence de substances toxiques (à laquelle les Bactéries nitrifiantes sont très sensibles), de traitements divers tels que la stérilisation partielle.

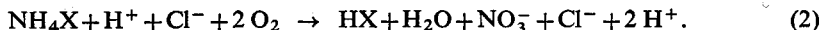
b) **Influence de la nature du support de l'azote ammoniacal (nitrogen carrier).** — L'acidité résultant de la nitrification est plus élevée lorsque cette oxydation biologique a lieu aux dépens d'un sel ammoniacal que lorsqu'elle a lieu aux dépens de l'ammoniac (NH_3).

Considérons en effet les deux cas :

1° *Apport au sol d'un sel d'ammonium.* — Cet apport entraîne d'abord une réaction de déplacement de l'acidité d'échange :



L'ammonium adsorbé (échangeable) est nitrifié suivant la réaction :



2° *Apport au sol d'ammoniac.* — La première réaction est une réaction de déplacement de l'acidité d'échange du type (1) :

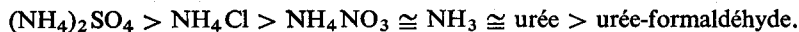


puis l'ammonium adsorbé est nitrifié :



Dans le premier cas, pour un atome d'azote, il y a production de deux protons et, dans le second cas, il y a production d'un seul proton.

En fait, les mécanismes de rétention des ions H^+ produits par ces réactions sont très complexes et varient considérablement d'un type de sol à l'autre. L'acidité résiduelle est en général déterminée empiriquement. On a ainsi montré que, dans un sol limono-sableux, l'effet acidifiant résultant de la nitrification de divers engrais ammoniacaux se classe comme suit :



Quant au NaNO_3 et au $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, ils induisent une légère alcalinisation qui est compensée, *in situ*, par l'acidification liée au lessivage des bases (WOLCOTT et coll., 1965). Il est des composés ammoniacaux qui, aussitôt ou peu après leur incorporation au sol,

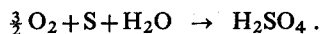
(1) X représente le complexe absorbant du sol.

élèvent le pH de ce dernier d'une ou plusieurs unités : ammoniac anhydre, urée, cyanamide calcique ou engrais organiques complexes riches en azote et facilement décomposables. La nitrification, qui se manifeste seulement quelque temps après l'application de ces composés (car c'est un processus plus lent que l'hydrolyse chimique ou biologique), abaisse le pH mais n'arrive pas toujours à le faire descendre au-dessous du niveau qu'il avait avant l'application des composés ammoniacaux (cf. p. 353).

c) **Dose du composé ammoniacal apporté au sol.** — L'acidification est en général d'autant plus importante que la dose du composé ammoniacal apporté au sol est élevée : c'est le cas du sulfate d'ammonium (fig. 77).

2° Acidification par sulfo-oxydation

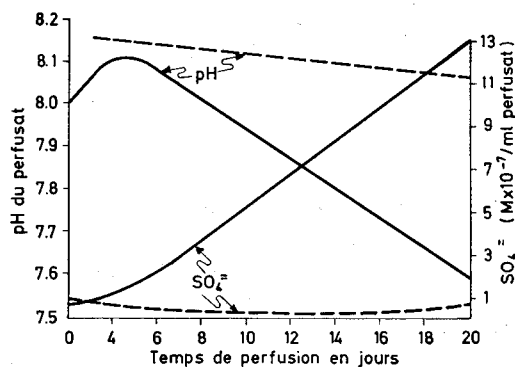
La sulfo-oxydation induit une acidification d'autant plus intense que la teneur du sol en soufre réduit ($S^=$ et S^0) est élevée. Le processus peut être schématisé par la réaction globale :



La figure 76 ci-jointe synthétise les résultats d'une expérience de perfusion portant sur un sol noir à alcalis enrichi en soufre à la dose de 3 %, d'où il ressort que, dans le sol enrichi en soufre, le pH en 20 jours tombe de 8,0 à 7,6 alors que la teneur en $SO_4^{=}$ passe de 7,5 à 13×10^{-7} M/ml de perfusat (fig. 78).

On a examiné antérieurement les conséquences pratiques de l'acidification par la sulfo-oxydation en agronomie et dans divers domaines.

FIG. 76. — Acidification résultant de la sulfo-oxydation dans un sol noir à alcalis enrichi en soufre élémentaire. Les courbes en pointillé correspondent au témoin non enrichi en soufre (McLAREN, 1963).



3° Acidification par production de gaz carbonique

De tous les produits de métabolisme microbien, le CO_2 est certainement le plus abondant. Le CO_2 forme, avec l'eau, de l'acide carbonique (H_2CO_3) ; mais il s'agit là d'un acide relativement faible dont l'effet acidifiant sur le sol est en général très peu

sensible sauf au niveau de la rhizosphère. Son effet est, par contre, notable quand il porte sur des milieux non tamponnés tels que la lame d'eau surmontant les sols hydromorphes ; on a effectivement mis en évidence dans cette nappe d'eau des sols de rizières une variation nycthémerale du pH : pendant la nuit le pH baisse en raison de la production de CO_2 par la microflore hétérotrophe et pendant le jour le pH remonte par suite de l'assimilation du CO_2 de l'eau par les Algues et les plantes aquatiques (GREENE, 1960 ; LEMÉE, 1967b).

4° Acidification par production d'acides organiques

De très nombreux micro-organismes telluriques sont capables de synthétiser des acides organiques. A titre d'exemple on citera le cas des Levures du genre *Lipomyces* qui font preuve d'un pouvoir acidifiant très élevé. Ainsi *Lipomyces starkeyi* cultivé à 30 °C avec agitation sur milieu au glucose fait tomber en quatre jours le pH de 6,9 à moins de 3 (STARKEY, 1946). Parmi les acides d'origine microbienne les plus fréquemment mis en évidence dans le sol, on citera les suivants : acides formique, acétique, butyrique, lactique, oxalique, succinique (ALEXANDER, 1961 ; WHITEHEAD, 1963). Ces acides interviennent non seulement en qualité d'agents acidifiants mais aussi en qualité d'agents complexants comme nous l'avons indiqué à l'occasion de l'étude de la complexation d'origine biologique (p. 291) ; on a évoqué à ce propos les principaux facteurs écologiques favorisant leur production et leur accumulation dans le sol. Parmi ces facteurs l'anoxybiose, rappelons-le, joue un rôle de tout premier plan (TAKAI et KAMURA, 1966).

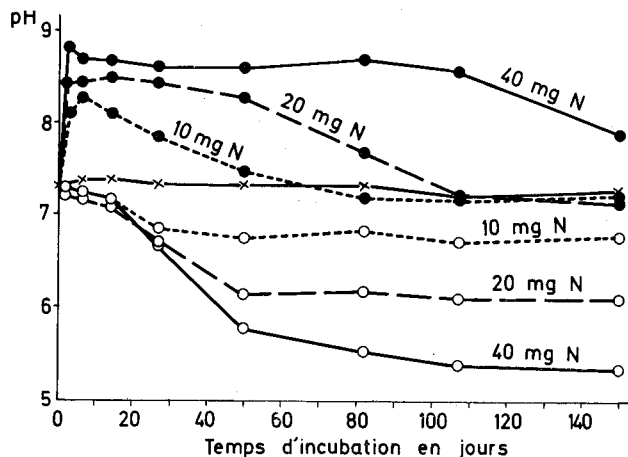
II. — ALCALINISATION D'ORIGINE MICROBIENNE

1° Alcalinisation par ammonification

L'enrichissement d'un sol en un composé organique azoté facilement décomposable et à faible C/N (urée, cyanamide calcique⁽¹⁾, farine de Luzerne, par exemple) entraîne toujours une élévation du pH, qui est due à l'accumulation d'ammoniac. Cette élévation de pH se maintient plus ou moins longtemps suivant que la dose appliquée est élevée (cf. fig. 77) et que l'ammoniac formé est ou non utilisé par les plantes, et qu'il est ou non nitrifié. Si, pour une raison ou une autre, la microflore nitrifiante est inhibée, le pH reste élevé. Ainsi le pH d'un sol neutre enrichi en hémoglobine (à la dose de 600 ppm) monte au cours de l'incubation à 8,0-9,0 puis tombe,

(1) En ce qui concerne la cyanamide calcique, elle induit une alcalinisation élevée non seulement par ammonification mais parce qu'elle donne naissance par hydrolyse à Ca(OH)_2 ; cet engrais contient en outre une proportion assez élevée de CaO (cf. p. 190).

FIG. 77. — L'application de sulfate d'ammonium (°) induit une acidification d'autant plus importante que la dose est forte. L'application de cyanamide calcique (●) induit une alcalinisation d'autant plus importante et durable que la dose est élevée. Ces doses sont exprimées en mg N par 100 g de sol (NOMMIK, 1958).



au bout de quelques jours, à 7,0 et se stabilise à ce niveau, car l'ammoniac accumulé au cours de la phase d'ammonification active, qui a duré environ 48 heures, est nitrifié progressivement. Le pH du même sol enrichi dans les mêmes conditions, mais préalablement stérilisé partiellement, s'élève de la même façon mais *se maintient* autour de 9,0, car la stérilisation partielle a détruit les nitrificateurs, qui sont les seuls micro-organismes susceptibles d'acidifier le milieu. Le réensemencement du sol avec des Bactéries nitrifiantes provoque la formation de nitrates et une baisse du pH (MOULINIER, 1965).

2° Alcalinisation du sol par sulfato-réduction

Contrairement à la sulfo-oxydation, la sulfato-réduction alcalinise le sol ; elle produit en effet des sulfures qui s'hydrolysent en donnant naissance à de l'hydroxyde de sodium, suivant une série de processus décrits antérieurement (p. 254).

CHAPITRE XIII

RÔLE DES MICRO-ORGANISMES DANS LA GENÈSE ET DÉGRADATION DE LA STRUCTURE ⁽¹⁾

A. — RAPPEL DES NOTIONS DE STRUCTURE ET DE STABILITÉ STRUCTURALE

a) Structure, agrégats, édifice structural. — Par structure, on désigne la manière dont sont disposées les unes par rapport aux autres, les particules élémentaires qui constituent le sol : sable, limon, argile, dont la séparation est effectuée au cours de l'analyse mécanique. On distingue trois types de structure :

1° La structure monoparticulaire dans laquelle les particules élémentaires sont simplement juxtaposées (sables dunaires, par exemple).

2° La structure continue dans laquelle les particules élémentaires sont réunies entre elles en masses continues (formations aliotiques et tuffeuses, croûtes, par exemple).

3° La structure fragmentaire dans laquelle les particules élémentaires sont agglomérées en unités structurales appelées *agrégats* de dimension variable (0,05 à 20 mm de diamètre) et qui ne se dispersent pas dans l'eau. C'est essentiellement ce dernier type de structure — de loin le plus fréquent — qui sera étudié ici.

Dans un agrégat, les particules élémentaires sont liées les unes aux autres par des produits agrégatifs : *ciments minéraux* (argiles, oxydes de fer ou d'aluminium, silice amorphe) ou *ciments organiques* (polysaccharides, résines, cires, protéines, et substances lipidiques et humiques) ; elles peuvent aussi être unies mécaniquement par des organismes ou des éléments d'organismes vivants : racines, hyphes fongiques, cellules bactériennes.

(1) L'influence de la structure, en tant que facteur écologique, réglant le développement et l'activité de la microflore tellurique, sera étudiée au chapitre VIII dans la troisième partie de cet ouvrage.

Les agrégats peuvent être eux-mêmes assemblés en unités structurales de plus grande dimension ou *macro-agrégats* pour constituer l'*édifice structural*, dont l'ensemble correspond au sol lui-même.

On n'a pas encore élucidé parfaitement les mécanismes qui aboutissent à l'édification des agrégats, mais on connaît les principaux agents impliqués (fig. 78).

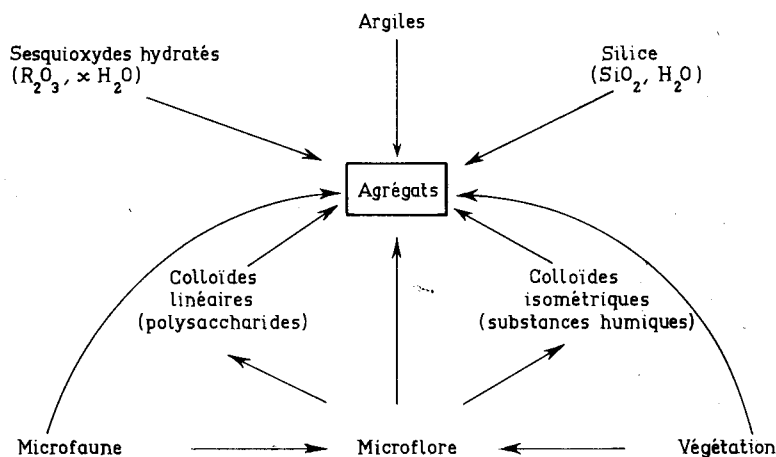


FIG. 78. — Agents biologiques et non biologiques intervenant dans la genèse des agrégats.

b) **Stabilité structurale.** — La structure n'est pas une caractéristique immuable du sol au même titre que sa granulométrie. Elle peut en effet évoluer plus ou moins rapidement sous l'influence de facteurs physiques, chimiques ou biologiques. Sur le plan agronomique, on attache une grande importance à la *stabilité de la structure*, c'est-à-dire à sa résistance aux agents de dégradation (tels que certaines façons culturales, érosion, etc.). On a démontré que la stabilité structurale est fonction de divers paramètres en particulier : 1° de la *cohésion du sol* « mesurée empiriquement par la résistance à la rupture de fragments de terre » (HÉNIN et coll., 1960) ; 2° de la *mouillabilité* de l'agrégat, qui dépend elle-même de la nature chimique des ciments organiques.

Nous renvoyons le lecteur intéressé par l'aspect physique et agronomique de la structure du sol aux ouvrages spécialisés tels que ceux de BAYER (1961), HÉNIN et ses collaborateurs (1960), ainsi qu'à la récente étude de MONNIER (1965) et à la revue de HARRIS et ses collaborateurs (1966a). En effet, c'est exclusivement sous l'optique du microbiologiste que nous aborderons ici ce problème de la structure du sol, problème qui domine par son importance pratique et théorique toute la science du sol. Nous traiterons

essentiellement du rôle des micro-organismes telluriques dans la genèse (agrégation) et la dégradation de la structure. Nous ne ferons qu'évoquer le rôle, pourtant majeur, des facteurs biologiques autres que les facteurs microbiens : microfaune et végétation.

B. — MISE EN ÉVIDENCE DE L'AGRÉGATION D'ORIGINE MICROBIENNE

La mise en évidence d'une agrégation d'origine microbienne ne présente aucune difficulté. HÉNIN (1944) a ainsi obtenu un accroissement considérable de la stabilité structurale dans un sol argilo-limoneux non stérile, en stimulant l'activité micro-biologique par incorporation au sol de sulfate d'ammonium et de glucose et incubation de trois semaines à une humidité convenable. Le glucose a été choisi comme source de carbone car, par lui-même ou ses produits de dégradation, il est peu susceptible de modifier la stabilité structurale (tableau IL).

TABLEAU IL. — ACCROISSEMENT DU POURCENTAGE D'AGRÉGATS STABLES
PAR STIMULATION DE L'ACTIVITÉ MICROBIENNE SOUS L'EFFET D'APPORTS DE GLUCOSE
(HÉNIN, 1944)

APPORTS DE GLUCOSE %	0	0,05	0,1	0,5	1	3
Limon de Versailles (horizon A)	7	7	6	12	22	45
Limon de Versailles (horizon B)	2	2	4	10	20	40

RUSSELL (1961) est parvenu à régénérer une structure stable à partir d'un sol stérile préalablement enrichi en glucose etensemencé avec différentes cultures mixtes, bactériennes ou fongiques. Les résultats les plus spectaculaires correspondent à l'inoculum fongique ; par contre, l'adjonction de glucose sans inoculum microbien ne se traduit par aucune régénération de la structure.

C. — MICRO-ORGANISMES RESPONSABLES DE L'AGRÉGATION

Les micro-organismes présentent entre eux des différences considérables en ce qui concerne leur aptitude à induire l'agrégation à partir d'un même substrat organique. Pour comparer ces aptitudes, on utilise la technique simple que l'on vient de décrire à propos de l'expérience de RUSSELL : ensemencement, avec des cultures microbiennes pures ou mixtes, de sols préalablement stérilisés et enrichis en diverses substances énergétiques, puis évaluation du pourcentage d'agrégats stables après incubation de quelques semaines à une humidité convenable. De nombreux travaux ont été consacrés à ce problème, et nous ne pourrions, ici, en citer que quelques-uns.

Nous analyserons, à titre d'exemple, les résultats obtenus par MARTIN (1945-1946), avec un sol limono-sableux enrichi en saccharose et inoculé avec des cultures pures de différents micro-organismes : Bactéries, Actinomycètes, Champignons. Il ressort du tableau L qu'une seule souche (bacille producteur d'antibiotique non déterminé) n'a exercé aucune action agrégative, alors que tous les autres micro-organismes essayés se sont révélés efficaces, l'effet le plus marqué étant dû à une souche bactérienne du groupe *Bacillus subtilis* et à un Champignon du genre *Cladosporium*.

TABLEAU L. — INFLUENCE DE DIVERS MICRO-ORGANISMES SUR LE POURCENTAGE D'AGRÉGATS STABLES DANS UN SOL LIMONO-SABLEUX ENRICHIS EN SACCHAROSE (MARTIN, 1945-1946)

MICRO-ORGANISMES	% D'AGRÉGATS ^a
Témoin	28
Témoin + éléments nutritifs	28
<i>Bacillus subtilis</i>	67
Bacille chromogène (pigment jaune vif)	47
Bacille producteur d'antibiotique	28
<i>Aerobacter aerogenes</i>	40
Actinomycète du sol	45
<i>Aspergillus niger</i>	49
<i>Aspergillus</i> (spores jaunes)	44
<i>Rhizopus nigricans</i>	45
<i>Cladosporium</i> sp.	66
<i>Alternaria</i> sp.	52
<i>Penicillium</i> sp.	52

^a Le pourcentage d'agrégats représente le pourcentage en poids des agrégats stables à l'eau d'un diamètre supérieur à 0,05 mm.

a) **Champignons.** — L'aptitude à l'agrégation est très répandue chez les Champignons, où l'on signale plus particulièrement certaines espèces parmi les genres suivants : *Cladosporium*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Sclerotium*, diverses Levures, notamment *Lipomyces starkeyi*, et des Basidiomycètes (MARTIN et WAKSMAN, 1940 ; MARTIN, 1945 et 1946 ; MÜLLER, 1958 ; KRASILNIKOV, 1958 ; RUSSELL, 1961 ; GRIFFITHS et JONES, 1965 ; HARRIS et coll., 1966b).

Il est toutefois des Champignons qui s'avèrent inaptes à l'induction de l'agrégation : c'est le cas de certains *Penicillium*, *Rhizopus*, *Mucor* (RUSSELL, 1961 ; MÜLLER, 1958).

b) **Actinomycètes.** — L'aptitude à l'agrégation est assez fréquente chez les Actinomycètes, notamment chez les espèces à structure mycélienne. Elle est facile à mettre en évidence par enrichissement du sol en chitine (GRIFFITHS et JONES, 1965).

c) **Bactéries.** — Elle existe encore, mais semble moins répandue, chez les Bactéries. Parmi les plus efficaces, citons : *Bacillus polymyxa*, *B. mycoides*, *B. subtilis*, *B. circulans*, *Rhizobium japonicum*, *Rh. leguminosarum*, *Beijerinckia indica*, *Pseudomonas* divers, *Chromobacterium violaceum* (MARTIN et WAKSMAN, 1940 ; MARTIN, 1945 et 1946 ; GEOGHEGAN, 1950 ; KRASILNIKOV, 1958 ; CLAPP et coll., 1962 ; WEBLEY et coll., 1965).

L'efficacité et la résistance à la biodégradation des substances agrégatives synthétisées varie considérablement d'une espèce à l'autre. Ainsi, les polysaccharides du *Beijerinckia* s'avèrent bien moins labiles que les polysaccharides de *Chromobacterium violaceum* ou *Azotobacter chroococcum* (MARTIN et coll., 1965).

Des variations de même nature ont été observées entre des souches de *Rhizobium*. Certaines souches d'*Azotobacter chroococcum*, d'*Escherichia coli* et divers *Bacillus* sont sans effet sur l'agrégation.

Les Bactéries joueraient un rôle plus important que les Champignons dans la stabilisation initiale des petits agrégats (0,5 à 2 mm), alors que les Champignons exerceraient une influence stabilisatrice plus marquée sur les gros agrégats (diamètre supérieur à 2 mm) (HARRIS et coll., 1964).

d) **Algues.** — Les Algues agrègent les particules élémentaires en surface des profils et contribuent ainsi, en association avec les Champignons filamenteux, à la formation de croûtes (structure continue), notamment sur les sols sableux (BOND et HARRIS, 1964).

D. — LES MÉCANISMES DE L'AGRÉGATION MICROBIENNE

L'agrégation microbienne des particules élémentaires du sol résulte :

- soit de l'intervention directe des cellules microbiennes : filaments fongiques qui relient les particules mécaniquement, cellules microbiennes encapsulées ou productrices de mucus qui engluent les particules ;
- soit de l'intervention indirecte des micro-organismes qui agissent par l'intermédiaire des produits ou sous-produits de leur métabolisme.

1° Agrégation directe par des cellules microbiennes

Ce type d'agrégation est répandu chez les Champignons filamenteux, qui interviennent par enchevêtrement mécanique des particules élémentaires entre leurs hyphes et/ou par adhérence de ces particules sur les hyphes (MARTIN et WAKSMAN, 1940 ; RUSSELL, 1961). L'adhérence des hyphes fongiques sur les particules minérales ou organiques est bien mise en évidence par la microscopie électronique à balayage (fig. 79). Lorsque les filaments mycéliens emballent l'agrégat dans un réseau lui permettant de résister au délitement, on peut admettre, avec MONNIER (1965), que l'amélioration de la stabilité structurale qui en résulte est due à une augmentation de la cohésion. Dans certains cas, les Algues interviendraient à la manière des Champignons.

Quant aux Bactéries, nombre d'entre elles fixent les particules élémentaires par leurs capsules ou leurs sécrétions gommeuses. En utilisant le microscope électronique, JACKSON et ses collaborateurs (1947) ont montré que les agrégats sont très fréquemment formés autour de microcolonies bactériennes.

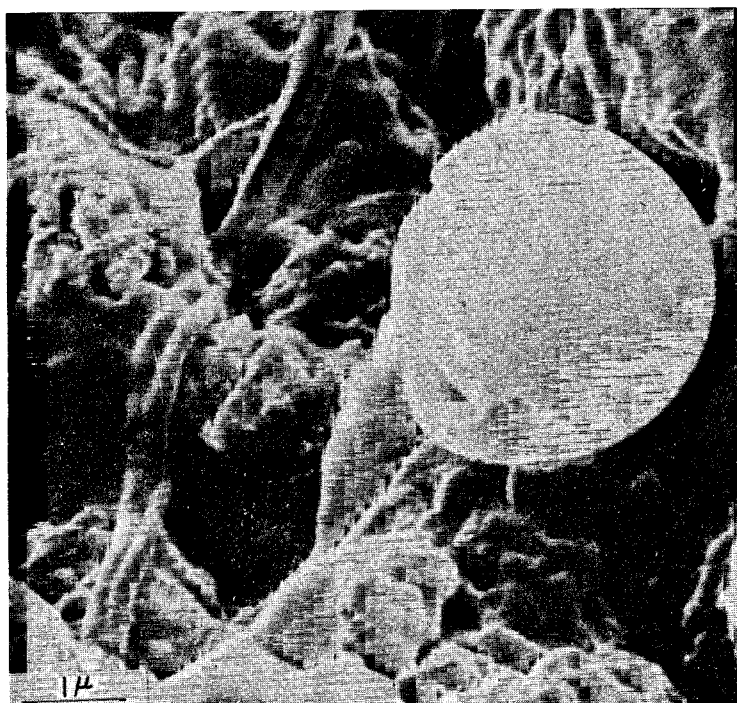
L'importance relative de l'agrégation par les cellules microbiennes et de l'agrégation par les produits de métabolisme microbien, est très discutée. Pour certains, le premier mécanisme d'agrégation est le plus efficace (BOND et HARRIS, 1964) ; pour d'autres, au contraire, c'est le second (GRIFFITHS et JONES, 1965). En fait, il n'y a pas de règle générale et ce sont les conditions écologiques propres à chaque sol qui accentuent la prédominance de l'un ou de l'autre des processus considérés.

2° Agrégation indirecte par les produits de métabolisme microbien

Les deux catégories de produits agrégatifs organiques les mieux connues sont les polysaccharides et les substances humiques.



A



B

En fait, ce ne sont pas des polysaccharides à l'état pur qui interviennent dans le sol, mais des mélanges complexes de polysaccharides que nous désignons ici sous le terme de *complexes agrégatifs à base de polysaccharides*. Quant aux substances humiques, nous les rangeons dans les produits de métabolisme microbien, car nombre d'entre elles ont une origine au moins partiellement microbiologique. Il existe d'autres produits agrégatifs d'origine microbienne, tels que les substances lipidiques, que nous examinerons rapidement en fin de chapitre.

a) Complexes agrégatifs à base de polysaccharides. — Les polysaccharides qui existent dans le sol sont des mélanges complexes de polymères hétérogènes provenant directement (gommes microbiennes) ou indirectement (sous-produits) du métabolisme microbien. Leurs constituants ont été étudiés par divers auteurs, dont BERNIER (1958).

1° Produits directs du métabolisme microbien : gommes microbiennes. — De nombreux micro-organismes telluriques produisent des substances extracellulaires gommeuses. Le pourcentage des micro-organismes présentant cette caractéristique est parfois très élevé ; d'après WEBLEY et ses collaborateurs (1965) il oscille entre 66 et 94 % dans la rhizosphère de différentes plantes et il est encore de l'ordre de 60 % dans le sol.

Lorsque la substance gommeuse adhère fortement et constitue une enveloppe autour de la cellule microbienne, on dit que celle-ci est *encapsulée* (fig. 80). La capsule fait partie de la cellule ; sa forme et ses limites sont bien définies : c'est le cas des *Bacillus* du groupe *Bacillus circulans-mucilaginosus-siliceus* ou de *Lipomyces starkeyi*. Lorsque la substance gommeuse peut, au contraire, se séparer de la cellule et lorsque sa densité décroît au fur et à mesure qu'on s'éloigne de la cellule, on parle de sécrétion gommeuse : c'est le cas de *Beijerinckia indica* et des *Rhizobium*.

Les gommes microbiennes peuvent renfermer des quantités importantes de polysaccharides relativement simples : *dextranes* (polymères du glucose), *lévanes* (polymères du fructose), par exemple (fig. 81). Mais certains polysaccharides sont plus complexes : ils sont constitués de deux ou plusieurs sucres différents (glucose, fructose, mannose, pentose, fucose, arabinose, xylose, rhamnose) et d'acides uroniques (produits d'oxydation des oses). Il existe enfin des produits gommeux composés de glycoprotéines, de complexes protéines-polysaccharides ou d'un réseau de polysaccharides rempli de polypeptides. Certaines gommes sont composées de polyuronides (polymères d'acides uroniques). Dans le sol, la synthèse des polysaccharides a lieu à partir de substrats simples ou complexes — résidus végétaux par exemple. En effet, en utilisant des substrats carbonés ^{14}C , KEEFER et MORTENSEN (1963) ont démontré que la microflore

FIG. 79. — *Hyphes fongiques enveloppant un grain de sable (A) et se développant sur un fragment de matière organique humifiée (B), d'après des photographies au microscope électronique à balayage dues à GRAY (1967). On distingue sur la photo B un corps globulaire qui pourrait être une spore (copyright 1967 by the American Association for the Advancement of Sciences).*

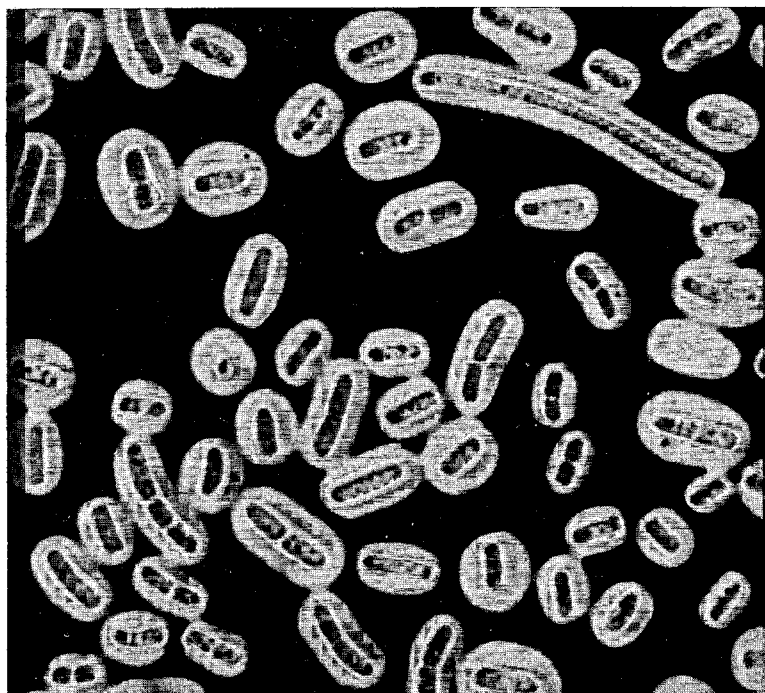


FIG. 80. — *Bacillus megaterium*, Eubactérie très fréquente dans tous les types écologiques. La préparation obtenue par suspension des cellules dans l'encre de Chine, met parfaitement en évidence les capsules ($\times 2\,700$) (C. F. ROBINOW, in STANIER et coll., 1966).

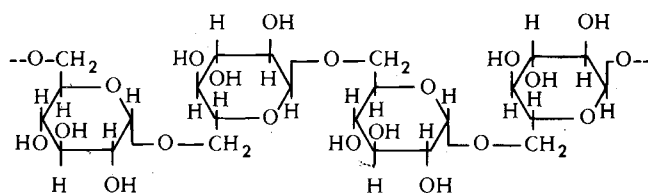
tellurique peut, dans le sol, faire la synthèse des polysaccharides aussi bien à partir de précurseurs hydrocarbonés simples (glucose, par exemple) qu'à partir de précurseurs complexes (tissus végétaux de Luzerne).

2° Sous-produits de l'activité microbienne. — Au cours de la dégradation microbienne, des polysaccharides entrant dans la constitution des tissus végétaux, sont libérés et, dans certaines conditions, s'accumulent dans le sol. Il ne s'agit pas de polysaccharides produits par la synthèse microbienne, mais plutôt de polysaccharides résiduels, véritables sous-produits de l'activité microbienne.

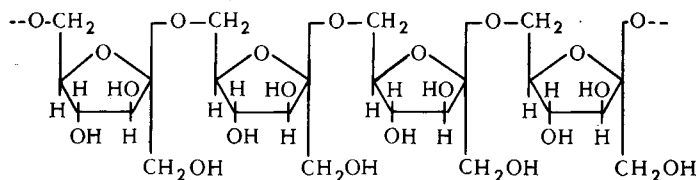
3° Mécanisme de l'agrégation par les polysaccharides. — Les polysaccharides agiraient essentiellement en augmentant la *cohésion* du sol, la *mouillabilité* étant diversement affectée (HÉNIN et coll., 1960 ; MONNIER, 1965). L'aptitude agrégative est attribuée par certains à la présence dans les molécules de polysaccharides de groupements carboxyle ($-\text{COOH}$). D'autres estiment que l'agrégation est essentiellement le fait des liaisons hydrogène entre les groupements hydroxyle ($-\text{OH}$) et les ions oxygène à la

surface des silicates ; GEOGHEGAN (1950) fonde son adhésion à cette seconde hypothèse sur l'existence d'une corrélation positive significative entre le pouvoir agrégatif des polysaccharides et leur richesse en groupements hydroxyle. On attache enfin, parfois, une grande importance à la liaison calcium qui s'établirait entre certains polysaccharides et les microparticules d'argile.

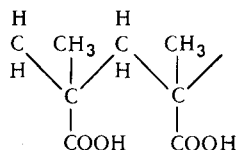
Les agents agrégatifs artificiels, tels que les polymères de l'acide acrylique ou kriliun (fig. 82) améliorent la cohésion du sol de la même façon que les polyuronides naturels du sol et notamment les gommés microbiennes. Leur efficacité est due à leur résistance à la biodégradation. Cette résistance leur confère une supériorité



Dextrane
(*Leuconostoc mesenteroides*)



Levane
(*Bacillus subtilis*)



Acide polyméthacrylique

FIG. 81. — Exemples de colloïdes agrégatifs naturels (dextrane et levane) ou artificiel (acide polyméthacrylique).

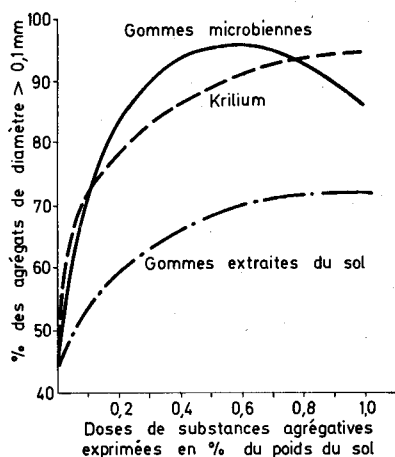


FIG. 82. — Comparaison de l'effet agrégatif de gommes bactériennes, de gommes extraites du sol et de krilium (RENNIE et coll., 1954).

incontestable sur les gommes microbiennes qui sont souvent métabolisées rapidement par la microflore tellurique.

4° Rôle agrégatif des polysaccharides microbiens dans le sol. — On admet actuellement que les polysaccharides à longue chaîne — en très grande partie d'origine microbienne — jouent un rôle certain dans la genèse de l'agrégation. Quatre arguments viennent à l'appui de cette thèse (MEHTA et coll., 1960) :

1° L'incorporation au sol de polysaccharides microbiens améliore parfois très fortement l'agrégation du sol (MARTIN, 1945 et 1946 ; CLAPP et coll., 1962 ; HARRIS et coll., 1963). L'amélioration obtenue est souvent du même ordre de grandeur que celle que l'on observe après application de substances agrégatives artificielles telles que les conditionneurs de sol polyacryliques (krilium) (fig. 82).

2° De nombreux micro-organismes telluriques s'avèrent, on l'a vu, capables de synthétiser des polysaccharides.

3° Les sols renferment des polysaccharides naturels que l'on peut extraire. Une fois réincorporées au même sol ou à d'autres sols, ces substances en améliorent la structure (RENNIE et coll., 1954 ; DUBACH et coll., 1955).

4° On a pu parfois établir l'existence de corrélations positives significatives entre la teneur en polysaccharides et la teneur en agrégats stables (RENNIE et coll., 1954 ; CHESTERS et coll., 1957).

A l'encontre de cette thèse de l'agrégation par les polysaccharides, on a avancé deux objections :

a) Assez souvent, il n'a pas été possible d'obtenir des corrélations significatives entre le taux de polysaccharides et l'agrégation du sol. Ces résultats, en contradiction avec ceux que nous venons de citer au 4° ci-dessus, s'expliquent par le fait qu'à côté des sols où l'agrégation est due essentiellement aux polysaccharides (sols de jeunes prairies, par exemple) et pour lesquels une corrélation positive existe entre la stabilité structurale et la teneur en polysaccharides, il est d'autres sols (prairies anciennes, rendzines forestières) dans lesquels le rôle des polysaccharides s'efface devant celui d'autres substances organiques, en particulier des substances humiques, et aussi des substances minérales (MEHTA et coll., 1960 ; GREENLAND et coll., 1962 ; ACTON et coll., 1963 ; CLAPP et EMERSON, 1965). Il est bien évident que, dans ces derniers sols, l'existence de la corrélation positive recherchée est fort improbable. Ajoutons que les racines — dont

l'effet agrégatif sera évoqué ultérieurement — parviennent aussi souvent à masquer, par leur action directe, le rôle des polysaccharides microbiens.

b) La plupart des polysaccharides microbiens sont rapidement détruits dans le sol par certains micro-organismes, de sorte que le taux d'agrégation élevé obtenu par incorporation de polysaccharides microbiens diminue assez vite. Ainsi, MARTIN (1945 et 1946), opérant sur un modèle de sol argilo-limoneux, a observé que la teneur en agrégats stables tombe de 67 à 38 % après huit jours d'incubation et à 32 % après quarante jours. Mais dans un sol normalement approvisionné en substances énergétiques, les processus de *synthèse* de polysaccharides coexistent avec les processus de *dégradation* (KEEFER et MORTENSEN, 1963), de sorte que la structure conserve sa stabilité.

b) **Substances humiques.** — 1° **Substances humiques et complexes argilo-humiques.** — En dehors des polysaccharides, il existe deux autres types de substances agrégatives susceptibles de jouer un rôle actif : ce sont les substances humiques et les complexes argilo-humiques.

La composition des *substances humiques* a été étudiée au chapitre IX ; nous n'y reviendrons pas ici. Qu'il nous suffise de préciser que les propriétés agrégatives des substances humiques dépendent de l'importance relative des fractions acides fulviques, acides humiques et humines. Elles dépendent en outre de la composition de chacune de ces fractions qui, on le sait, varie considérablement d'un type de sol à l'autre.

Quant aux complexes *argilo-humiques* ⁽¹⁾, ils jouent un rôle important dans la genèse de la structure du sol. Au cours des cinq dernières années, leur efficacité à ce point de vue a été démontrée expérimentalement par de nombreux auteurs, soit par la méthode analytique, soit par la méthode synthétique, cette deuxième méthode consistant à reconstituer artificiellement des agrégats à ciment argilo-humique, dont on teste la stabilité (DUCHAUFOUR, 1968).

2° **Mécanisme de l'agrégation par les substances humiques.** — Nos connaissances actuelles sur le mécanisme de l'agrégation par les substances humiques manquent de bases expérimentales solides.

Certains faits tendent cependant à indiquer que ces substances agissent à la fois par accroissement de la cohésion et par réduction de la mouillabilité.

a) L'accroissement de la cohésion peut s'expliquer par la présence de polysaccharides dans les différentes fractions humiques ; l'existence d'une corrélation significative

(1) On sait depuis longtemps que les substances humiques adsorbent les argiles ou sont adsorbées par les argiles et constituent avec elles des complexes dits complexes argilo-humiques, dont on explique l'existence par la théorie de l'adsorption polaire. Les substances humiques sont des composés polaires dont une extrémité des molécules est positive. Elles se fixent donc facilement par cette extrémité sur les particules d'argile qui sont électronégatives. L'adsorption polaire se traduit par la constitution autour des colloïdes argileux d'une enveloppe de colloïdes humiques (BAVER, 1961).

entre le taux d'agrégation et la teneur en polysaccharides de l'acide fulvique d'une part et des acides humiques et de l'humine d'autre part vient à l'appui de cette thèse (ACTON et coll., 1963).

b) D'autres auteurs (HÉNIN et coll., 1960) estiment que, dans certains sols, c'est plutôt en réduisant la mouillabilité que les substances humiques stabilisent la structure.

3° Rôle dans le sol de l'agrégation par les substances humiques. — Il est possible de mettre en évidence, *au laboratoire*, l'influence stabilisatrice des substances humiques.

TABEAU LI. — ACCROISSEMENT DU POURCENTAGE D'AGRÉGATS STABLES PAR APPORT D'ACIDES HUMIQUES DANS L'HORIZON B D'UN LIMON DE VERSAILLES (d'après DEMOLON et HÉNIN, 1932)

Pourcentage d'acides humiques incorporés au sol	0	0,5	1	2,5	5
Pourcentage d'agrégats stables	1,5	3,0	2,5	21,5	37,5

Ainsi, par adjonction d'acides humiques à un sol de limon, DEMOLON et HÉNIN (1932) élèvent sensiblement le pourcentage d'agrégats stables de diamètre supérieur à 0,2 mm (tableau LI). L'amélioration de la stabilité ainsi obtenue est nette, mais est cependant inférieure à celle que l'on observe dans le même sol par apport de quantités équivalentes de glucose (tableau IL), qui, on l'a indiqué antérieurement, induit la production de quantités importantes de polysaccharides agrégatifs. Parfois même l'incorporation au sol de matériaux riches en substances humiques est sans effet sur la structure.

Au champ le rôle stabilisateur de l'humus est difficile à démontrer. Pour certains auteurs, il ne fait aucun doute. Ainsi HEINONEN (1958) a pu établir par l'analyse statistique (méthode de régression multiple) l'existence, dans certains types de sols, de corrélations positives significatives entre leur teneur en humus et leur stabilité structurale. Pour d'autres auteurs, d'ailleurs plus nombreux, l'humus est un agent agrégatif peu actif. Ainsi, HÉNIN et ses collaborateurs (1960) constatent que l'apport d'acides humiques sous forme d'amendements de tourbes est pratiquement sans effet. Comparant l'agrégation dans des sols tempérés et tropicaux, COMBEAU (1965) en arrive à la conclusion que ce sont les polysaccharides ou les substances préhumiques qui cimentent entre elles les particules élémentaires, alors que l'humus lui-même ne possède pas cette propriété.

Ces résultats, en apparence contradictoires, s'expliquent par le fait que la composition des substances humiques est loin d'être constante et que le rôle relatif des polysaccharides, des substances préhumiques et des substances humiques varie considérablement d'un type de sol à l'autre. En fait, on peut admettre que, comparativement aux polysaccharides microbiens, à longues molécules, les substances humiques sont, pour une même teneur dans le sol, moins efficaces en raison de leur structure isomé-

trique (MEHTA et coll., 1960 ; KONONOVA, 1961). Mais leur résistance plus grande à la biodégradation leur confère un effet beaucoup plus prolongé.

c) **Complexes agrégatifs de nature lipidique.** — De nombreux micro-organismes telluriques synthétisent des substances lipidiques. On sait que ces substances accroissent la stabilité structurale non pas en renforçant la cohésion des particules comme les polysaccharides, mais en diminuant la mouillabilité du sol. Leur mode d'action se rapproche donc de celui de certaines fractions humiques. On a démontré que des substances lipidiques synthétisées par *Penicillium notatum* et *Aspergillus niger* ou extraites d'un sol organique, améliorent très sensiblement la stabilité structurale, à condition d'être pulvérisées à la surface même des agrégats, les doses employées étant de l'ordre de 1 %. Le rôle effectif des substances lipidiques est très mal connu. Il serait très généralement discret, mais pourrait se développer dans certains types de sol (GEOGHEGAN, 1950).

E. — FACTEURS INFLUANT SUR LA GENÈSE ET LA DÉGRADATION MICROBIENNE DE LA STRUCTURE

L'importance relative des processus de biosynthèse et de biodégradation des substances agrégatives est régie par de nombreux facteurs extrinsèques dont nous examinerons ci-dessous quelques-uns des mieux connus.

1° Matière organique

La biosynthèse des polysaccharides est d'autant plus active que le sol est mieux approvisionné en matière organique fraîche. Mais toutes les formes de matière organique ne satisfont pas aux besoins des micro-organismes producteurs de substances agrégatives.

On sait, par exemple, que *Leuconostoc mesenteroides* synthétise abondamment des produits muqueux à partir du saccharose mais qu'il ne peut le faire à partir du glucose. L'influence, sur l'intensité de l'agrégation, de la nature du sucre mis à la disposition de *Bacillus subtilis* inoculé dans un modèle de sol (mélange d'argile et limon) est également considérable ; après une incubation de 10 jours, le pourcentage d'agrégats, qui dans le témoin est de 26, s'élève à 38 avec le xylose, 45 avec le dextrose et 68 avec le saccharose (MARTIN, 1945 et 1946). Parmi les substrats susceptibles d'induire une agrégation biologique intense, on a signalé récemment les hydrocarbures saturés à longues chaînes ainsi que certains de leurs dérivés substitués (FEHL et LANGE, 1965).

In situ les apports de matière organique fraîche, qui consistent dans l'enfouissement de paille, fumier, engrais verts, litières forestières et tous autres débris végétaux, donnent des résultats très variables ; les différences observées dans les effets de ces apports semblent liées à la nature des produits agrégatifs synthétisés ou résiduels, aux interférences entre ces produits synthétisés et les produits résiduels et aussi à la vitesse de dégradation des substrats.

Plus le C/N de la matière organique fraîche est élevé, plus les biosynthèses de polysaccharides sont actives ; inversement, un C/N bas entraîne la prédominance des processus de biodégradation. C'est ce qui explique que l'application d'engrais azotés entraîne parfois une baisse de la stabilité structurale ; mais ce n'est pas toujours le cas. On verra plus bas que l'apport au sol de matière organique à C/N élevé favorise le colmatage du sol.

2° Chaulage

Le chaulage induit généralement une amélioration très nette de la stabilité structurale. Celle-ci résulterait non seulement de l'intensification des processus de floculation des colloïdes sous l'effet de l'ion calcium, mais encore de la stimulation de l'activité des micro-organismes producteurs de substances agrégatives sous l'influence de l'élévation du pH. On a, en effet, démontré expérimentalement que, si l'apport au sol de poudre de Luzerne est un moyen excellent d'améliorer la stabilité structurale, l'apport conjoint de cette matière organique et de chaux est encore plus efficace. Un argument en faveur du rôle favorable du chaulage sur l'agrégation microbienne réside dans le fait que, dans les sols acides, l'amendement apparaît beaucoup plus efficace lorsqu'il est appliqué concurremment avec du fumier ou toute autre matière organique décomposable (RUSSELL, 1961).

3° Influence de l'aération et du régime hydrique du sol

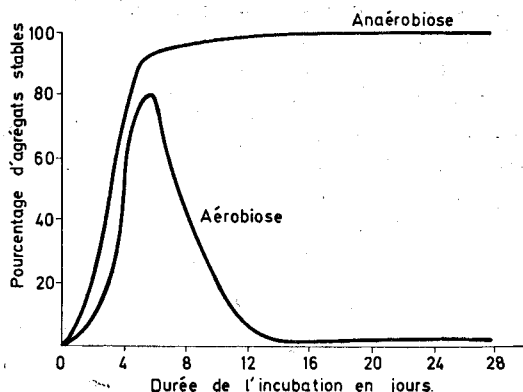
a) *Très fortes humidités.* — Certaines expériences au laboratoire et des observations au champ tendent à montrer que l'agrégation biologique est favorisée par une anaérobiose au moins partielle, liée souvent à une forte humidité.

Comparant l'influence de l'aérobiose et de l'anaérobiose sur la genèse de la structure dans un sol enrichi en saccharose, HARRIS et ses collaborateurs (1963) ont mis en évidence dans le premier cas (aérobiose) une phase d'amélioration de la structure suivie d'une phase de dégradation un peu plus lente, dans le second cas (anaérobiose) une phase d'amélioration de la structure suivie d'une phase de stabilisation à un niveau très élevé (100 %) (fig. 83).

Cet effet favorable de l'anaérobiose a été vérifié au champ et à partir de substances organiques complexes (HÉNIN et coll., 1960). Les substances agrégatives peuvent agir au niveau où elles ont été synthétisées ou au contraire plus profondément si elles ont été entraînées par lessivage. Ainsi, dans une prairie retournée, MONNIER (1965) attribue

l'amélioration de la stabilité structurale au-dessous de la semelle de labour à l'infiltration de substances agrégatives synthétisées en semi-anaérobiose à partir du mat de prairie enfouie.

FIG. 83. — Influence comparée de l'aérobiose et de l'anaérobiose sur le pourcentage d'agrégats stables dans un sol limono-argileux enrichi en saccharose (HARRIS et coll., 1963).



b) **Très faibles humidités.** — Inversement, on peut se demander quelle est l'influence des très faibles humidités sur le développement de l'agrégation d'origine microbienne. Il résulte de recherches effectuées par l'un de nous en Afrique occidentale, qu'à des humidités inférieures au point de flétrissement permanent, c'est-à-dire à des pF supérieurs à 4,2, l'agrégation d'origine microbienne peut encore être relativement intense si la microflore dispose d'un substrat métabolisable dans ces conditions, par exemple glucose, poudre de feuilles d'Arachide. C'est essentiellement la microflore fongique qui intervient alors (DOMMERGUES, 1962).

4° Influence des racines et effet rhizosphérique

La végétation exerce sur la structure du sol un effet direct et un effet indirect, dont l'importance est fonction de la pérennité de cette végétation et de sa composition floristique. L'effet le plus marqué correspond à une végétation herbacée continue et permanente (prairie permanente) qui confère, en général, au sol une excellente structure, dite grumeleuse, se maintenant une ou plusieurs années après destruction de cette végétation par labour. On explique généralement l'effet de la végétation par des interventions *directes*, de nature mécanique, du système racinaire, telles que l'agrandissement des fissures par pression, ou la déshydratation locale. Mais il semble qu'on n'ait pas, jusqu'à présent, attaché assez d'importance à l'*effet indirect* de stimulation rhizosphérique vis-à-vis des micro-organismes producteurs de substances agrégatives. Les travaux récents de WEBLEY et ses collaborateurs (1965) démontrent, en effet, que la rhizosphère de plantes herbacées (notamment des Graminées réputées pour leur effet reconstituant vis-à-vis de la structure) est beaucoup plus riche (en valeur absolue et relative) en micro-organismes capsulés et synthétisant des gommés que le sol non rhizosphérique

(tableau LII). L'efficacité des Graminées est encore accrue par le fait que les polysaccharides synthétisés dans la rhizosphère sont très régulièrement répartis dans le sol puisque les racines des Graminées sont elles-mêmes généralement distribuées avec régularité dans une grande partie du profil.

TABLEAU LII. — POURCENTAGE DES MICRO-ORGANISMES CAPSULÉS OU PRODUCTEURS DE SUBSTANCES GOMMEUSES DANS LA RHIZOSPHERE ET LE RHIZOPLAN DE TROIS GRAMINÉES (WEBLEY et coll., 1965)

		MICRO-ORGANISMES CAPSULÉS	MICRO-ORGANISMES PRODUCTEURS DE GOMMES	MICRO-ORGANISMES CAPSULÉS ET PRODUCTEURS DE GOMMES	TOTAL
<i>Lolium perenne</i>	Rhizoplan	10	66	18	94
	Rhizosphère	18	32	28	78
<i>Dactylis glomerata</i>	Rhizoplan	10	42	40	92
	Rhizosphère	18	24	18	60
<i>Phleum pratense</i>	Rhizoplan	14	48	18	80
	Rhizosphère	30	12	24	66
Sol non rhizosphérique		28	22	14	64

5° Stabilisation des polysaccharides agrégatifs

Pour être efficaces, les polysaccharides agrégatifs doivent résister à la biodégradation. Cette résistance peut résulter de leur structure chimique propre, qui leur confère une insensibilité plus ou moins marquée à l'attaque microbienne ou enzymatique. Mais, elle peut aussi être due à l'intervention de processus de stabilisation encore parfois hypothétiques (ALLISON, 1968) :

- 1° Stabilisation par complexation avec des ions métalliques.
- 2° Stabilisation par repolymérisation enzymatique (MARTIN et coll., 1966).
- 3° Stabilisation par établissement de liaisons entre les groupes actifs des polysaccharides et les colloïdes minéraux, notamment les argiles à trois couches.
- 4° Stabilisation par inclusion à l'intérieur des agrégats (cf. p. 482).

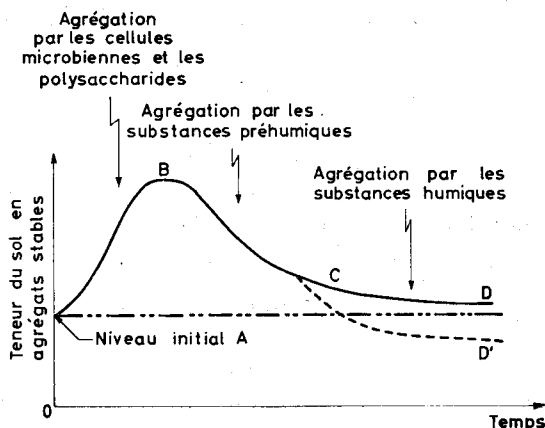
F. — CINÉTIQUE DE L'AGRÉGATION

Lors d'un enrichissement du sol en matière organique fraîche, réalisé par enfouissement d'engrais vert ou de fumier, on observe une amélioration rapide de l'agrégation suivie d'une baisse progressive et enfin d'une phase de stabilisation à un niveau plus ou moins bas.

1° Première phase ou phase d'agrégation intense

Cette phase (portion *AB* de la courbe, fig. 84) est due à une prolifération explosive des micro-organismes qui interviennent :

FIG. 84. — Evolution, au cours d'une période de l'ordre de 4 à 12 mois, de la teneur en agrégats stables d'un sol ayant reçu un apport de matière organique fraîche au temps 0 (d'après MONNIER, 1965).



- a) directement (agrégation directe par les cellules microbiennes) ;
- b) indirectement (agrégation indirecte par les produits de métabolisme).

Dans cette phase, les produits de métabolisme, qui sont pour une grande part des *polysaccharides*, s'avèrent très efficaces mais sont facilement biodégradables. Malgré leur caractère labile, ils jouent un rôle important sur le plan agronomique.

2° Deuxième phase ou phase de ralentissement progressif de l'agrégation

Cette phase (portion *BC* de la courbe) s'étend sur une période dont la durée varie en fonction de la nature et de la quantité de matière organique incorporée au sol et des conditions de décomposition.

Les substances agrégatives seraient alors constituées par des produits transitoires de dégradation de la matière organique : les *substances préhumiques* (MONNIER, 1965).

3° Troisième phase ou phase de stabilisation de l'agrégation

Cette phase (portion *CD* de la courbe) marque la disparition des produits agrégatifs labiles. L'agrégation serait alors essentiellement le fait des *substances humiques stables*, dont l'action est, certes, plus durable mais beaucoup moins intense que celle des polysaccharides, qui abondent dans la première phase. Si le sol ne reçoit aucun apport nouveau de matière organique par suite de son maintien en jachère nue ou du mauvais développement des plantes cultivées, on observe une dégradation progressive de la structure *au-dessous* du niveau initial (portion *CD'* de la courbe).

G. — ANOMALIES STRUCTURALES D'ORIGINE BIOLOGIQUE

Il s'agit là de véritables maladies de la structure dont nous examinerons ici deux cas typiques : l'une est liée à une surproduction de substances agrégatives antimouillantes, l'autre à une surproduction de substances agrégatives colmatantes.

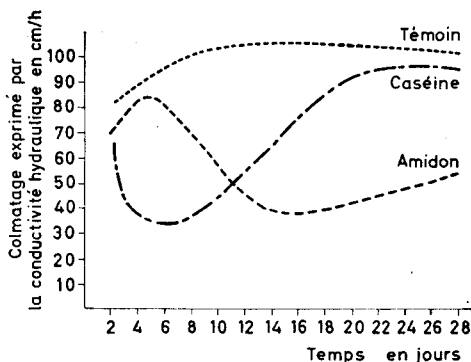
1° Surproduction de substances antimouillantes

Certains sols se réhumectent très difficilement après dessiccation et l'eau y circule en empruntant des canaux entre des blocs qui, après séchage, ne se réhydratent pas lorsqu'il y a eu une biosynthèse excessive de gommés microbiennes hydrofuges. R. D. BOND (1964) cite en particulier le cas de sables qui sont devenus hydrofuges par suite de l'enrobement des particules par un film imperméable de substances organiques résultant du métabolisme des Basidiomycètes.

2° Surproduction de substances agrégatives colmatantes

Une surproduction des gommés microbiennes peut entraîner l'obturation des pores du sol, d'où apparition d'un phénomène de colmatage qui est nuisible (colmatage de puisards, par exemple) ou utile (constitution d'un horizon peu perméable en rizière). Le colmatage est favorisé : 1° par la présence, dans le sol, de matière organique à C/N élevé, qui stimule la microflore productrice de polysaccharides (fig. 85) ; 2° par l'anaérobiose (JONES et TAYLOR, 1965).

FIG. 85. — Influence de différents substrats sur l'intensité du colmatage d'origine microbienne (AVNIMELECH et NEVO, 1964).



H. — ANNEXE

RÔLE DE LA MICROFAUNE DANS L'ÉDIFICATION DE LA STRUCTURE

La microfaune peut intervenir : 1° directement dans les processus d'agrégation, en produisant, par exemple, des mucilages (Vers de terre), en creusant des galeries ou en brassant les différents horizons du sol ; 2° indirectement, en mélangeant intimement les particules organiques aux particules minérales ou en fractionnant les résidus organiques en fines particules, favorisant ainsi le développement ultérieur des micro-organismes.

Le rôle favorable des Vers de terre est établi avec certitude. Il peut même être considérable dans certains sols forestiers ou de prairie. Il ne faut cependant pas le surestimer. Comparant la stabilité structurale dans les rejets et dans le sol, sous trois types de couverture végétale, DUTT (cité par RUSSELL, 1961), a montré que l'amélioration due aux Vers de terre (19 % d'agrégats stables) était inférieure à l'agrégation obtenue par une jachère (46 % d'agrégats stables) (tableau LIII). L'action des Vers de terre sur la stabilité structurale des sols a fait l'objet d'une revue récente de BACHELIER (1963) que l'on pourra consulter avec profit.

Certains Termites joueraient un rôle agrégatif non négligeable dans les sols tropicaux. D'autres éléments de la microfaune interviennent également : Nématodes, larves de Diptères (SZABO et coll., 1962), Micro-arthropodes notamment Acariens et Collembolés. Dans certains sols particuliers, les Micro-arthropodes, par l'abondance de leurs formations coprogéniques de petite taille (0,01 à 0,1 mm), sont les agents d'agrégation dominants (KÜHNELT, 1958).

TABLEAU LIII. — COMPARAISON DE LA STABILITÉ STRUCTURALE
DANS DES REJETS DE VERS DE TERRE ET DANS L'HORIZON SUPERFICIEL D'UN SOL
SOUS TROIS TYPES DE COUVERTURE VÉGÉTALE
(DUTT, cité par RUSSELL, 1961)

TYPE DE VÉGÉTATION	POURCENTAGE D'AGRÉGATS STABLES (agrégats entre 2 et 4,7 mm)	
	Dans le sol	Dans les rejets
Sol cultivé	7	19
Jachère de trois ans	46	58
Forêt	59	68

TROISIÈME PARTIE

**INFLUENCE
DU MILIEU ÉDAPHIQUE
SUR LA MICROFLORE**

CHAPITRE PREMIER

LES ÉLÉMENTS MINÉRAUX EN TANT QU'AGENTS TOXIQUES (1)

Lorsqu'ils atteignent une teneur anormalement élevée dans le sol, certains éléments minéraux inhibent plus ou moins une partie ou l'ensemble de la microflore tellurique. Nous insisterons plus particulièrement sur le cas des sols salés et évoquerons très rapidement ensuite deux types de toxicité bien moins connus sur le plan de la biologie du sol : toxicité aluminique et toxicité manganique.

I. — BIOLOGIE DES SOLS SALÉS

Rappelons que les sols salés — appelés aussi sols halomorphes — peuvent être classés schématiquement en deux grands groupes : les sols salins et les sols sodiques.

a) *Les sols salins* (saline soils) caractérisés par :

- un complexe absorbant renfermant moins de 15 % d'ions sodium, donc n'induisant pas une défloculation des argiles ;
- une teneur élevée en sels solubles se traduisant par une conductivité électrique de l'extrait de pâte saturée de sol supérieure à 4×10^{-3} mhos/cm (U. S. Salinity, Lab. Staff, 1954) ;
- un pH inférieur à 8,5.

Les sols salins blancs ou *solontchaks* sont des sols salins typiques présentant en surface des efflorescences salines blanches.

b) *Les sols sodiques ou sols à alcalis* (sodic ou non saline alkali soils) caractérisés par :

- un complexe absorbant renfermant plus de 15 % d'ions sodium, donc induisant un effondrement de la structure par suite de la défloculation des colloïdes argileux ;

(1) Le rôle des éléments minéraux en tant qu'aliments a été examiné à l'occasion de l'étude des cycles et des transformations microbiennes de l'azote, du soufre, du phosphore, du fer, du manganèse, du potassium.

- une teneur en sels solubles moins importante que celle des sols salins, la conductivité de l'extrait de pâte saturée de sol étant inférieure à 4×10^{-3} mhos/cm ;
- un pH compris entre 8,5 et 10,0.

Les sols à alcalis typiques sont les sols à alcalis noirs (black alkali soils) ; ils doivent leur nom aux efflorescences noires d'humates alcalins qui se forment parfois en surface. Les sols à alcalis lessivés sont appelés *solonetz* ; par dégradation podzolique, les *solonetz* donnent à leur tour les *solods*.

Les sels solubles qui s'accumulent dans les sols salés sont essentiellement formés des ions Ca^{++} , Mg^{++} , Na^+ , Cl^- , SO_4^{--} ; les ions K^+ , HCO_3^- , CO_3^{--} sont moins abondants. La proportion de ces ions varie considérablement dans les différents sols. Les borates, qui apparaissent quelquefois, jouent un rôle important, même à faible dose, en raison de leur toxicité élevée vis-à-vis des végétaux ; leur effet sur les micro-organismes telluriques ne semble pas encore avoir été étudié.

La complexité de l'effet, dans le sol, de la salure sur les micro-organismes est telle qu'il est difficile de tirer des conclusions générales des travaux, d'ailleurs assez peu nombreux, consacrés à la biologie des sols salés. Nous essaierons toutefois de synthétiser ici les faits les plus saillants qui ont trait essentiellement à la fixation d'azote, à la nitrification et à la réduction des sulfates.

Les sols salés constituent, pour de nombreux micro-organismes telluriques, un milieu défavorable, en raison :

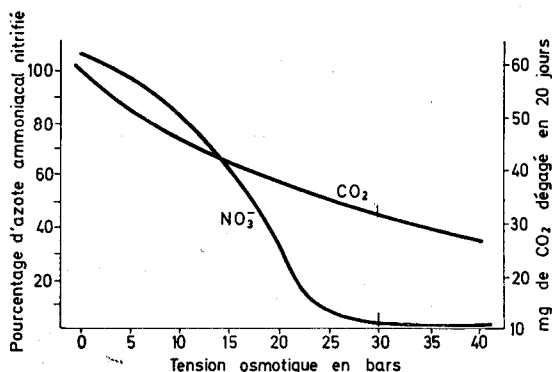
- de la présence d'ions toxiques ;
- du pH parfois très basique (10,0) ;
- de la structure asphyxiante ;
- de leur tension osmotique parfois élevée que l'on exprimera en général en bars.

Comme les autres facteurs inhibiteurs, la salure exerce sur la microflore tellurique une action différentielle telle que certains micro-organismes ou groupes de micro-organismes sont peu touchés, alors que d'autres, plus sensibles, sont inhibés.

C'est ainsi que, dans un sol calcaire de la série de Fort Collins (Colorado), une adjonction d'un mélange de NaCl et Na_2SO_4 , induisant une tension osmotique de 30 bars, réduit de plus de 95 % la nitrification alors que le dégagement de CO_2 est réduit de 50 % seulement (fig. 86). De telles différences ne peuvent s'expliquer que par le fait qu'une fraction de la microflore résiste bien à des teneurs élevées en sels. On admet que les micro-organismes les plus sensibles sont les Champignons. Mais cette règle souffre de très nombreuses exceptions ; on connaît des Champignons appartenant aux genres *Penicillium* et *Aspergillus* résistant bien à des teneurs élevées en NaCl (10 à 20 %), de sorte que la salinité ne joue pas toujours un rôle déterminant dans la distribution de la microflore fongique. Les Algues présentent une sensibilité très variable : les fortes teneurs en sel éliminent la plupart des Diatomées, des Volvocales, des Ulothricales, mais sont sans effet sur certaines Cyanophycées appartenant au genre *Anabaena* et certaines Chlorococcales. Chez les Bactéries, le caractère de résistance au sel varie considérablement d'une espèce à l'autre et à l'intérieur d'une même

espèce, comme on le verra à propos des *Azotobacter*. Parmi les espèces bactériennes susceptibles de croître à des concentrations en chlorure de sodium très élevées (15 %), signalons une espèce mise en évidence par SASSON (1967) dans un sierozem marocain : *Brevibacterium halotolerans*.

FIG. 86. — Influence d'apports croissants d'un mélange de NaCl et Na₂SO₄, induisant des tensions osmotiques allant de 0 à 40 bars, sur la nitrification et le dégagement de CO₂ dans un sol calcaire de la série de Fort Collins (Colorado) (JOHNSON et GUENZI, 1963).



a) Influence de la salure sur les micro-organismes fixateurs d'azote. —

1° Micro-organismes fixateurs non symbiotiques. — Les *Azotobacter* résistent beaucoup mieux à la salure que la plupart des plantes cultivées. On a vu page 168 que, dans des sols encore très salés, ils peuvent atteindre des densités considérables : 10⁶ à 10⁷/g de sol. Ils sont fréquents dans les sols de bordure de mer (MAHEUT et DOMMERGUES, 1959).

Le seuil de toxicité — ou teneur en sel au-delà de laquelle ces Bactéries ne se multiplient plus ou meurent — varie de 2 à 5 % suivant les souches : il peut même dépasser cette valeur. Mais l'aptitude à fixer l'azote diminue beaucoup ou disparaît bien avant que le seuil de toxicité lui-même ne soit atteint. C'est ainsi que le pouvoir fixateur d'azote de souches tolérant des teneurs en sel de 2,5 à 3 % s'abaisse fortement dès que la dose de sel est comprise entre 0,2 et 1,5 % (ISWARAN et coll., 1965). RANKOV (1964) estime aussi que des teneurs en sel supérieures à 0,5 % nuisent à la fixation d'azote par les *Azotobacter* et les *Clostridium*.

2° *Rhizobium*. — La sensibilité de la nodulation à la salinité est très variable. Elle est, bien entendu, liée à la sensibilité au sel de la plante hôte ; mais elle dépend aussi de la sensibilité des espèces ou souches de *Rhizobium* impliquées dans la symbiose. C'est ce qui découle d'expériences faites avec des cultures en pot sur sable (BERNSTEIN et OGATA, 1966). Ces chercheurs montrent clairement :

1° que la nodulation du Soja est beaucoup plus sensible au sel que la nodulation de la Luzerne (fig. 87) ;

2° que le Soja (plante hôte) est moins sensible au sel que la nodulation elle-même et qu'en conséquence, l'effet de la salure est bien un effet spécifique qui ne s'exerce pas par l'intermédiaire de la plante.

D'expériences effectuées au champ par les mêmes auteurs, il résulte que la nodulation du Soja est déprimée fortement par une conductivité de 7×10^{-3} mhos/cm (ce qui

correspond à une tension osmotique de l'ordre de 4,6 bars) et est inhibée totalement lorsque la salinité est plus élevée. Il est à noter que l'inhibition totale de la nodulation n'entraîne pas un effondrement du rendement si la Légumineuse peut disposer dans le sol d'une quantité suffisante d'azote minéral.

b) Influence de la salure sur la nitrification et l'ammonification. — De tous les processus biologiques, la nitrification est certainement le plus sensible à l'influence toxique de la salure. Le seuil de toxicité est, bien entendu, fonction de la nature des sels, qui se classent dans l'ordre suivant : NaCl (0,02 %), Na_2CO_3 et NaHCO_3 (0,2 %), Na_2SO_4 (1 %). La toxicité plus grande du NaCl par rapport au Na_2SO_4 ressort bien de travaux tels que ceux de JOHNSON et GUENZI (1963) (fig. 88). La toxicité de ces sels est moins marquée si le sol renferme du carbonate de calcium vraisemblablement en raison de l'effet stimulant de ce carbonate sur la nitrification (PATHAK et JAIN, 1965).

Un taux élevé de sodium échangeable ralentit la minéralisation du stock d'azote organique du sol : ainsi, le coefficient de minéralisation de l'azote⁽¹⁾ dans un solod est de 1,38 alors que, dans un solonetz, sol nettement plus salé, il tombe à 0,61 (CAIRNS, 1963).

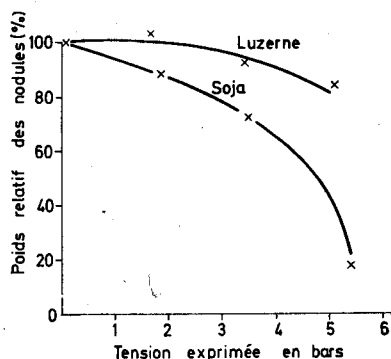


FIG. 87

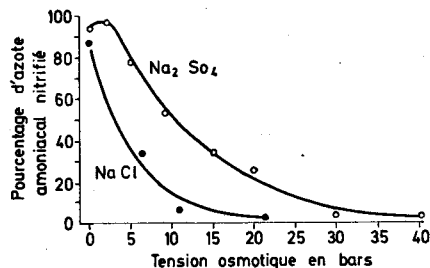


FIG. 88

FIG. 87. — Influence de la teneur croissante en NaCl , induisant des tensions osmotiques allant de 0 à 6 bars, sur le poids relatif $\frac{\text{poids en milieu salé}}{\text{poids en milieu non salé}} \times 100$ des nodules de Soja et de Luzerne (BERNSTEIN et OGATA, 1966).

FIG. 88. — Influence de la teneur, exprimée par la tension osmotique induite, et de la nature du sel sur la nitrification dans un sol non calcaire de la série de Fort Collins. On note que, pour une même tension osmotique, NaCl est beaucoup plus toxique que Na_2SO_4 (JOHNSON et GUENZI, 1963).

⁽¹⁾ Par coefficient de minéralisation de l'azote, on désigne le pourcentage de l'azote organique du sol susceptible d'être minéralisé au cours d'une incubation en laboratoire de quatre à cinq semaines.

c) **Réduction des sulfates dans les sols salés.** — La réduction biologique des sulfates nécessite le concours des quatre facteurs suivants : anaérobiose, présence d'ions SO_4^- , présence de matière organique en quantité suffisante, présence de micro-organismes sulfato-réducteurs.

Ces conditions sont souvent réunies dans les sols salés et les vases littorales où :

1° la défloculation des argiles consécutive à la richesse du complexe absorbant en ions Na^+ induit une structure défectueuse et, par là, un mauvais drainage, d'où apparition d'une anaérobiose marquée à faible profondeur ;

2° les ions sulfates sont souvent abondants ;

3° la matière organique peut exister en quantité suffisante :

— soit qu'elle provienne de résidus de la végétation halophile,

— soit qu'elle provienne des cellules mortes des micro-organismes photosynthétiques halophiles (Algues) ;

4° les micro-organismes sulfato-réducteurs, que l'on sait particulièrement résistants à des teneurs élevées en sel, sont peu concurrencés par le reste de la microflore tellurique.

On comprend très bien, dans ces conditions, que les sols salés — notamment les sols à alcalis — apparaissent comme particulièrement favorables au développement des processus de réduction du soufre. La réduction est souvent localisée à un horizon du profil dont l'épaisseur est assez faible (quelques centimètres).

II. — TOXICITÉ ALUMINIQUE

a) **Conditions d'apparition de la toxicité aluminique.** — L'effet inhibiteur de l'aluminium sur l'activité biologique se manifeste seulement dans les sols acides où la teneur du sol en ions Al^{+++} échangeables est élevée.

D'après MUTAKAR et PRITCHETT (1966), il faut que le pH soit inférieur à 4,0 ou 4,5 pour que l'on observe une baisse significative du dégagement de CO_2 dans un sol ferrallitique renfermant 3 % de C organique sous l'effet d'apports d'Al égaux ou supérieurs à 600 ppm portant la proportion des ions Al^{+++} échangeables à des valeurs supérieures à 10 % de la capacité totale d'échange.

La toxicité aluminique disparaît en présence d'ions calcium. C'est ainsi que le chaulage lève la toxicité aluminique : ce traitement permet, par exemple, le développement d'*Azotobacter* dans des sols podzoliques où une teneur élevée en aluminium échangeable inhibe normalement ce micro-organisme sensible (GROMYKO et BLOKHINA, 1964).

La toxicité aluminique est réduite par la matière organique qui séquestre l'aluminium : c'est à cet effet complexant qu'on attribue la discrétion relative de la toxicité

de l'aluminium dans les sols de mangrove (cf. p. 248), où il existe pourtant une forte accumulation de cet élément (HESSE, 1963).

Nous verrons plus loin que les seuils de toxicité de l'aluminium en milieux de culture (liquides ou gélosés) sont beaucoup plus bas (50 à 100 ppm) ; mais, comme dans le sol, on observe souvent un accroissement de la toxicité lorsque le pH s'abaisse.

b) Toxicité aluminique directe et indirecte. — 1° Toxicité aluminique directe. — La toxicité aluminique a été démontrée *in vitro* sur divers micro-organismes telluriques. Les Bactéries et Actinomycètes sont nettement inhibés lorsqu'ils sont cultivés sur des milieux gélosés contenant plus de 50 ppm Al ; les Champignons sont moins sensibles puisqu'ils supportent des teneurs de 100 ppm (YOSHIDA et SAKAI, 1963). Les *Beijerinckia* résistent beaucoup mieux à la toxicité aluminique que les *Azotobacter*, ce qui expliquerait en partie leur adaptation aux sols ferrallitiques qui, on le sait, sont riches en aluminium échangeable. BECKING (1961) a montré qu'une souche de *Beijerinckia* — pourtant considérée comme non particulièrement résistante à la toxicité aluminique — fixe encore activement l'azote atmosphérique en présence de 80 ppm Al à un pH compris entre 7,5 (pH initial) et 5,0 (pH final), la fixation étant quelque peu ralentie à des pH plus acides, c'est-à-dire compris entre 5,0 (pH initial) et 3,0 (pH final). Une autre souche (*Beijerinckia mobile*, souche 1) étudiée par le même auteur s'est révélée insensible à la même teneur en Al, quel que soit le pH.

La toxicité aluminique peut s'exercer directement sur la microflore *dans le sol lui-même* ; elle a été démontrée en particulier par les travaux de MUTATKAR et PRITCHETT (1966) déjà cités.

2° Toxicité aluminique indirecte. — Dans le sol, bien souvent, l'effet dépressif de l'aluminium sur l'activité biologique s'exerce par suite :

a) de l'acidification, qui va de pair avec une teneur élevée en aluminium échangeable ;

b) de la formation de complexes matière organique-aluminium difficilement biodégradables ;

c) du blocage de certains éléments indispensables. Pour lever ce dernier type de toxicité indirecte, il suffit d'ajouter au sol l'élément qui a été bloqué par l'aluminium. Ainsi, en ajoutant des phosphates à un sol renfermant des teneurs élevées en aluminium, YOSHIDA et SAKAI (1963) favorisent un accroissement des densités microbiennes et le développement de l'activité biologique.

III. — TOXICITÉ MANGANIQUE

Nous évoquerons ici seulement le problème de la toxicité manganique vis-à-vis de la symbiose *Rhizobium*-Légumineuses. Cette toxicité, comme celle de l'aluminium, se

manifeste avec intensité seulement dans le cas des sols acides, si bien que l'on a cru longtemps que l'échec des Légumineuses dans certains sols acides était dû au pH, alors qu'en fait, il est dû à l'action toxique de l'ion Mn^{++} .

En culture sur sable, la toxicité manganique, dans le cas de la symbiose *Rhizobium-Phaseolus vulgaris*, se manifeste dès que la teneur du milieu en Mn^{++} est de 25 ppm : dans ces conditions, la fixation d'azote est réduite de 30 à 60 % (DÖBEREINER et ALVAHYDO, 1967). Des résultats comparables ont été obtenus dans le cas de *Trifolium repens* (VOSE et JONES, 1963).

Dans les sols acides, la toxicité apparaît à partir de teneurs de l'ordre de 40 ppm. Pour lever cette toxicité, on peut appliquer au sol des amendements calciques qui donnent parfois des résultats spectaculaires (p. 390). Mais lorsque le chaulage peut s'avérer préjudiciable au maintien de la fertilité du sol, notamment sous climat tropical où il risque d'accélérer exagérément la biodégradation de certaines fractions organiques du sol, il est préférable de s'orienter vers la sélection de souches de *Rhizobium* résistant à des teneurs élevées en Mn^{++} (DÖBEREINER, 1966b).

CHAPITRE II

LE FACTEUR pH

Nous ne rappellerons pas ici les notions générales concernant le pH du sol, sa mesure, le pouvoir tampon du sol qui sont clairement exposées dans d'autres ouvrages comme ceux de BUCKMAN et BRADY (1960), DUCHAUFOUR (1965). Nous insisterons, par contre, sur certains aspects souvent négligés, en particulier sur la question de l'hétérogénéité de la distribution des ions H^+ dans le sol.

Après avoir exposé brièvement les effets du pH sur les micro-organismes en culture pure hors du sol, nous essaierons de faire ressortir la complexité dans le sol des effets du pH vis-à-vis de la microflore, puis nous donnerons quelques exemples de pH optimaux, nous évoquerons enfin l'influence du pH sur l'activité enzymatique et les effets du chaulage. L'influence du pH sur les principaux processus biologiques — fixation d'azote, ammonification, nitrification, dénitrification, cellulolyse, etc. — a été traitée lors de l'analyse de chacun de ces processus ; on s'y reportera.

I. — INFLUENCE DU pH SUR LES MICRO-ORGANISMES EN CULTURE PURE HORS DU SOL

1° Micro-organismes indifférents, neutrophiles, acidiphiles, basiphiles

L'action du pH sur les micro-organismes dépend de leur tolérance vis-à-vis de ce facteur. On distingue à ce point de vue quatre catégories de micro-organismes :

a) *Les micro-organismes indifférents*, qui se développent dans une large gamme de pH. C'est le cas de très nombreuses Bactéries, pour lesquelles la croissance est satisfaisante entre les pH 6,0 et 9,0 (STANIER et coll., 1966). En culture pure, de nombreux Champignons sont encore plus tolérants (MEYER, 1963). Parmi les exemples figurant au tableau LIV, citons *Penicillium aculeatum*, qui se développe très bien entre les pH 2 et 6, et *Trichoderma viride* entre 2 et 8, *Aspergillus fischeri* entre

TABLEAU LIV. — INFLUENCE DU pH SUR LA CROISSANCE DE CHAMPIGNONS DU SOL
EXPRIMÉE EN mg DE MYCÉLIUM PAR 100 ml DE MILIEU
(MEYER, 1963)

pH	2	3	3,5	4	5	6	7	8
<i>Chloridium caudigerum</i>	672	400	500	446	376	218	150	30
<i>Penicillium aculeatum</i>	555	663	682	654	555	440	50	20
<i>Penicillium verruculosum</i>	430	570	620	650	840	820	530	0
<i>Chloridium caudigerum</i>	150	360	333	317	245	327	343	100
<i>Aspergillus raperi</i>	300	970	976	900	910	840	735	555
<i>Chaetomium trilaterale</i>	318	532	627	708	686	537	293	0
<i>Trichoderma viride</i>	417	635	768	795	660	789	738	584
<i>Penicillium diversum</i>	503	580	525	491	580	586	562	330
<i>Penicillium multicolor</i>	540	540	570	590	610	520	510	460
<i>Staphylotrichum coccosporum</i>	0	510	510	656	805	625	460	595
<i>Aspergillus fischeri</i>	0	840	980	940	1040	960	920	740
<i>Penicillium vermiculatum</i>	0	520	600	785	790	875	860	550
<i>Pseudobotrytis terrestris</i>	0	0	245	438	363	330	430	171
<i>Myrothecium verrucaria</i>	0	385	567	549	707	693	656	524
<i>Myrothecium roridum</i>	0	0	483	702	842	853	637	540

3 et 8. Il en est de même de nombreuses Algues vertes (Chlorophycées) qui ne présentent pas d'exigences strictes.

b) *Les micro-organismes neutrophiles*, qui préfèrent les pH voisins de la neutralité ou même légèrement basiques. Tel est le cas des *Azotobacter*, des *Nitrosomonas* et *Nitrobacter*, de nombreux Actinomycètes, dont le développement en culture pure est impossible au-dessous du pH 5,5.

Les Cyanophycées préfèrent aussi les milieux neutres ou légèrement basiques. L'acidité retarde non seulement leur croissance mais inhibe la fixation d'azote. Cette fonction disparaît chez *Nostoc muscorum* lorsque le pH descend au-dessous de 5,7. Les Diatomées ont aussi la réputation d'être neutrophiles.

c) *Les micro-organismes acidiphiles*, qui préfèrent des milieux franchement acides. L'exemple classique est celui de *Thiobacillus thiooxidans* et *T. ferrooxidans*, dont les pH optimaux sont compris entre 2,0 et 3,5.

d) *Les micro-organismes basiphiles*, qui ne supportent pas des pH inférieurs à 8,0 : les Bacilles décomposant l'urée appartiennent à cette catégorie.

REMARQUE. — A l'intérieur d'un même groupe de micro-organismes, il peut y avoir des différences considérables suivant les espèces ou même les souches en ce qui concerne leurs exigences vis-à-vis du pH. Ainsi, chez les *Streptomyces*, qui se comportent en général en neutrophiles, on a mis en évidence dans des sols podzoliques sept groupes spécifiques (dont un appartiendrait au groupe *Streptomyces acidophilus*) poussant bien en culture pure à des pH compris entre 4 et 4,5 (CORKE et CHASE, 1964).

Chez les Champignons, dont on vient de souligner la tolérance au pH, il existe des espèces à exigences strictes qui sont ou neutrophiles ou acidiphiles ; à ce dernier type appartient *Plasmodiophora brassicae*, espèce qui s'avère phytopathogène seulement dans les sols à $\text{pH} < 7,5$.

2° Mécanisme d'action du pH

L'inhibition du développement des micro-organismes aux pH qui leur sont défavorables ne résulte pas directement de la teneur élevée du milieu en ions H^+ ou OH^- , mais de l'influence indirecte du pH sur la pénétration dans les cellules microbiennes de composés toxiques présents dans le milieu. C'est vraisemblablement à cet effet indirect que l'on peut attribuer la toxicité élevée de certaines litières forestières dans les sols très acides (sols podzoliques, par exemple). Le pH agit aussi indirectement en modifiant l'assimilabilité des différents composés nutritifs minéraux ou organiques.

II. — COMPLEXITÉ DES EFFETS DU pH SUR LES MICRO-ORGANISMES DANS LE SOL

L'étude du comportement vis-à-vis du pH des micro-organismes dans le sol est beaucoup plus délicate que l'étude portant sur des milieux simples tels que les milieux artificiels habituellement utilisés au laboratoire. En effet, dans le sol, la distribution des ions H^+ est loin d'être homogène ; en outre l'effet du pH proprement dit est compliqué par des interactions multiples de nature physique, chimique et biologique. Il en résulte que, pour un micro-organisme considéré, les pH cardinaux observés dans le sol ne correspondent pas en général avec les pH cardinaux déterminés à partir de cultures pures. Nous en donnerons quelques exemples précis page 471.

1° Microhétérogénéité de la distribution des ions H^+ dans le sol

La mesure électrométrique classique du pH, telle qu'on la pratique sur pâte ou sur suspension de sol, donne seulement une estimation globale approximative du pH, que nous désignons sous le terme de *pH mesuré*. Ainsi un sol dont on a évalué le pH à 6,0 peut fort bien renfermer des microhabitats où le pH est d'une demi-unité ou d'une unité plus bas ou plus élevé. Cette microhétérogénéité de la concentration des ions H^+ dans le sol a une double origine :

a) *Origine physique de la microhétérogénéité du pH.* — Au contact des particules colloïdales, notamment des particules argileuses, la concentration en ions H^+ est plus élevée que dans les solutions du sol, de sorte que des micro-organismes adsorbés

sur ces colloïdes se trouvent à un pH inférieur au pH mesuré. Il en est de même pour les enzymes (cf. p. 470).

b) Origine biologique de la microhétérogénéité du pH. — La microhétérogénéité du pH provient aussi de l'hétérogénéité : 1° de la distribution des racines des végétaux, dont les exsudats modifient localement le pH ; 2° de la distribution des débris organiques de toutes sortes servant de substrats aux micro-organismes qui se multiplient à leur contact en synthétisant des substances acidifiantes ou alcalinisantes (cf. p. 349) diffusant mal dans le sol. C'est par cette microhétérogénéité que l'on peut expliquer que certains sols acides puissent renfermer une microflore neutrophile abondante et souvent même active.

2° Interaction de facteurs biologiques

a) Compétition. — Dans le sol, le pH ne régit pas seulement l'activité d'un micro-organisme donné, mais il règle aussi l'activité des autres micro-organismes et, par cela même, l'intensité des processus compétitifs. L'analyse du comportement des Champignons illustre bien ce fait. On a rappelé plus haut qu'en culture pure de nombreux Champignons s'avèrent très tolérants vis-à-vis du pH ; dans le sol, au contraire, ils se comportent en acidiphiles : ils se développent beaucoup mieux dans les sols acides que dans les sols neutres ou alcalins. Cette prédominance dans les sols à $\text{pH} < 5,0$ n'est pas due au fait qu'ils y trouvent des conditions optimales de croissance, mais à la réduction de la concurrence des Actinomycètes et Bactéries, ces derniers micro-organismes supportant beaucoup moins bien l'acidité.

b) Modification du pH par les micro-organismes eux-mêmes. — On a vu plus haut que les micro-organismes peuvent modifier le pH du micro-habitat à l'intérieur duquel ils se développent par production de substances alcalinisantes ou acidifiantes. C'est à la propriété de synthétiser des composés acides que *Lipomyces starkeyi*, Levure acidiphile, doit l'aptitude à se développer dans des sols très basiques tels que les rendzines. Inversement, de nombreux micro-organismes neutrophiles, comme les *Streptomyces*, peuvent survivre et même être actifs dans des sols acides, sols podzoliques par exemple (HOLDING et coll., 1965), car ils alcalinisent localement les microhabitats où ils prolifèrent ; la conservation dans les sols tropicaux acides des *Rhizobium* du groupe cow-pea pourrait être due au fait que ces souches sont alcalinisantes, alors que les *Rhizobium* des autres groupes, qui sont plus généralement acidifiants, sont adaptés aux sols basiques (NORRIS, 1965).

Ces modifications du pH d'origine biologique sont liées à l'existence de substrats convenables ; lorsque ceux-ci disparaissent, les modifications induites par les micro-organismes tendent à s'effacer rapidement.

3° Interaction de facteurs chimiques et physiques

La tolérance effective d'un micro-organisme vis-à-vis du pH dépend dans une certaine mesure de la composition chimique du substrat qui est à sa disposition. Ainsi, sur un milieu à base de cellulose, les Actinomycètes se développent difficilement en dehors de l'intervalle de pH 6,0-7,0 ; par contre, sur un substrat glucosé, la gamme de pH tolérés est beaucoup plus large (SZEGI, 1964). La nature de l'azote minéral joue aussi un rôle important. C'est ainsi qu'on a mis en évidence l'interaction suivante entre le processus d'immobilisation de l'azote minéral et la forme de cet azote minéral : si cet azote est sous forme ammoniacale, la quantité d'azote immobilisé croît avec le pH ; si cet azote est sous forme nitrrique, l'immobilisation décroît avec le pH (BROADBENT et TYLER, 1965).

On a déjà évoqué l'interaction des colloïdes et notamment des argiles ; nous n'y reviendrons pas.

III. — EXEMPLES DE pH CARDINAUX DÉTERMINÉS DANS LE SOL ET HORS DU SOL

1° Bactéries nitrifiantes

Les pH cardinaux déterminés dans le sol (pH mesuré) sont très généralement décalés par rapport aux pH homologues déterminés en dehors du sol, dans des milieux liquides par exemple ; ce décalage peut se manifester dans l'un ou l'autre sens.

Décalage du pH semi-optimal mesuré vers les pH plus élevés. — D'une expérience mise en place par McLAREN (1963), il résulte que le pH semi-optimal (c'est-à-dire pour lequel le taux de nitrification représente 50 % du taux maximal) est de 6,0 en milieu liquide et de 6,6 dans le sol (fig. 119). Il y a, dans ce cas, un décalage de 0,6 unité vers les pH plus élevés, que l'on explique par l'interaction des argiles (cf. p. 470).

Déplacement du pH minimal mesuré vers les pH plus faibles. — Dans les sols utilisés par WEBER et GAINÉY (1962), le pH minimal est de l'ordre de 4,0, alors que le pH minimal en milieu liquide est d'environ 6,0. Le décalage observé, qui est de 2,0 unités vers les pH plus faibles, pourrait s'expliquer par l'interaction des facteurs biologiques évoqués antérieurement (alcalinisation locale par des ammonificateurs). Rappelons que l'on a aussi invoqué, dans ce cas, l'intervention de souches de Bactéries autotrophes plus tolérantes à l'acidité ou de micro-organismes nitrificateurs hétérotrophes, qui sont très tolérants.

2° Cyanophycées

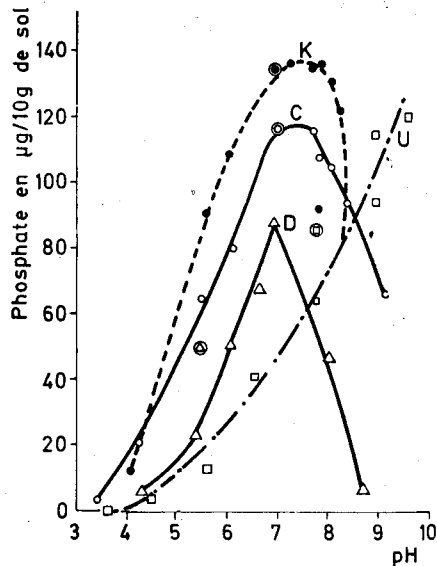
En culture pure, les Cyanophycées se comportent en organismes neutrophiles ; il serait en général impossible ou très difficile de les cultiver à des pH inférieurs à 6,0.

Dans de nombreux sols, par contre, ces Algues prolifèrent encore activement à des pH compris entre 4,0 et 6,0. En effet, il résulte d'une étude statistique portant sur 117 sols de rizière japonais que plus de la moitié des sols acides ($\text{pH} \leq 6,0$) sont favorables ou très favorables à la croissance des Cyanophycées (OKUDA et YAMAGUCHI, 1956). L'acidité du sol n'interdit donc pas obligatoirement le développement des Cyanophycées ; elle n'interdit pas non plus la fixation de l'azote par ces Algues, à condition que celles-ci se trouvent en présence de végétaux vivants, Riz par exemple (DE et SULAIMAN, 1950).

IV. — INFLUENCE DU pH SUR LES ACTIVITÉS ENZYMATIQUES

On sait que les réactions enzymatiques sont très sensibles au pH du milieu, chaque enzyme purifiée présentant un optimum, un minimum et un maximum d'activité qui lui est propre. On peut donc s'attendre à ce que, dans le sol, les variations du pH d'un type pédologique à l'autre ou dans le cadre d'un même type pédologique, retiennent sur les activités enzymatiques dont il est le siège.

FIG. 89. — Influence du pH sur l'activité glycérophosphatase dans différents sols tchécoslovaques (DROBNIKOVA, 1961). C, sol de prairie (pH : 5,6) ; D, sol de hêtraie (pH : 4,8) ; K, sol de steppe (pH : 6,8) ; U, sol cultivé (pH : 7,9).



Effectivement l'expérience montre que l'activité d'un système enzymatique donné varie très nettement en fonction du pH. L'on observe en général la présence d'un optimum, parfois de deux optimaux lorsqu'une même réaction enzymatique implique l'intervention de deux systèmes enzymatiques différents (HALSTEAD, 1964 ; MOURARET, 1965). Parfois, contrairement à ce que l'on obtient avec les enzymes purifiées, il n'existe aucun optimum, l'activité croissant avec le pH : ce fait a été observé pour l'uréase dans certains sols d'URSS (MARKOSYAN et GALSTYAN, 1963) et pour la phosphatase dans un sol tchécoslovaque (sol U de la figure 89). Une même enzyme peut présenter des pH optimaux très différents suivant les types de sol considérés en raison de l'interaction de divers facteurs, dont le plus connu est le facteur argile : on a prouvé en effet que l'adsorption des enzymes sur les colloïdes argileux décale parfois d'une ou deux unités les pH optimaux mesurés vers les pH plus élevés (cf. p. 470).

V. — EFFETS DU CHAULAGE

Le chaulage est une pratique agricole courante qui consiste à apporter des amendements calciques ou parfois magnésiens en vue de corriger l'acidité du sol et amener le pH au niveau le plus favorable au développement de la plante. En dehors de cette action sur le pH, le chaulage peut améliorer la structure et modifier certaines caractéristiques chimiques du sol notamment : 1° réduire l'assimilabilité d'éléments tels que Fe, Al, Mn qui peuvent être toxiques pour les plantes ; 2° accroître la teneur du sol en Mo, P, Ca, Mg assimilables par les végétaux. Un chaulage *bien conduit* se traduit en outre par une stimulation très nette de l'activité biologique. Nous donnerons ici quelques exemples concernant l'effet du chaulage sur l'activité des processus impliqués dans le cycle de l'azote et du carbone et sur les activités enzymatiques du sol.

a) **Fixation d'azote libre.** — Le chaulage favorise la microflore fixatrice d'azote neutrophile, en particulier les *Azotobacter* (DOMMERGUES, 1956a) et les Cyanophycées (WATANABE, 1962). Il est probable que ce traitement agit sur les micro-organismes fixateurs non seulement en élevant le pH, mais aussi en les protégeant contre les substances toxiques.

b) **Fixation symbiotique chez les Légumineuses.** — Le chaulage favorise la *nodulation* chez de nombreuses Légumineuses des régions tempérées (Trèfle, Luzerne notamment) mais n'est pas nécessaire pour obtenir de bonnes nodulations chez des Légumineuses tropicales telles que *Pueraria phaseoloides* (cf. p. 624). Il agit parfois indirectement sur la nodulation et la fixation d'azote en insolubilisant des éléments toxiques pour les *Rhizobium*, comme le manganèse ; c'est ainsi que DÖBEREINER et ses collaborateurs (1965) ont triplé, par ce traitement, la fixation d'azote par le Soja.

c) **Nitrification.** — Le chaulage favorise souvent la prolifération des Bactéries nitrifiantes. Il stimule généralement très efficacement la nitrification aussi bien en milieu tempéré qu'en milieu tropical.

d) **Minéralisation de l'azote.** — La minéralisation de l'azote (qui n'est autre que l'ensemble des processus d'ammonification et de nitrification) est nettement stimulée par le chaulage. En d'autres termes, on peut dire que le chaulage annihile l'effet stabilisateur de l'acidité vis-à-vis de la biodégradation de la matière organique du sol.

L'exaltation de la minéralisation de l'azote par le chaulage proviendrait non seulement de l'amélioration des conditions de développement et d'activité des micro-organismes ammonificateurs et nitrificateurs, mais aussi d'une accélération des réactions enzymatiques due à l'élévation du pH ⁽¹⁾. Un tel accroissement de l'activité enzymatique a été observé pour l'uréase dans des sols tropicaux appartenant à des types pédologiques très différents : sol ferrugineux tropical de Bambey, Sénégal (DOMMERGUES, 1956a), sol hydromorphe organique de bananeraie de Kindia, Guinée ; dans ce dernier cas, la teneur en uréase des parcelles amendées représentait plus de 250 % de la teneur des parcelles témoins (CHAMPION et coll., 1958).

La stimulation observée est souvent d'autant plus intense que le pH initial du sol est bas (WINSOR, 1958).

On a cherché à mettre à profit cette action du chaulage pour améliorer la nutrition azotée des arbres dans les sols forestiers à humus bruts très acides (pH 3,5 et 4,0). Les résultats ont été souvent négatifs car le chaulage de tels sols est défavorable à de nombreuses espèces forestières acidiphiles et il élimine des micro-organismes utiles, tels que les mycorrhizes. Il est souvent insuffisant pour améliorer la structure et activer la minéralisation notamment dans le cas où le C/N est très élevé (DUCHAUFOUR et MANGENOT, 1956). Il est alors nécessaire de conjuguer le chaulage avec un enrichissement du sol en azote, par exemple en installant une Légumineuse ne craignant pas l'acidité (MILLER, 1964).

e) **Minéralisation du carbone organique du sol.** — Pour étudier l'effet du chaulage sur la minéralisation du carbone du sol, il faut distinguer son effet sur la matière organique fraîche, *sensu stricto*, sur la matière organique fraîche en voie de transformation et sur la matière organique humifiée.

1° **Matière organique fraîche « sensu stricto ».** — Le chaulage exerce toujours un effet stimulant très marqué sur la dégradation de la matière organique fraîche, qui est composée essentiellement de débris végétaux divers.

2° **Matière organique fraîche en cours de transformation.** — Cette fraction, qui correspond aux produits intermédiaires de dégradation de la matière organique fraîche,

(1) Si le chaulage stimule souvent les activités enzymatiques du sol, il a parfois un effet dépressif qui sera évoqué plus loin (p. 392).

ou à des produits de synthèse tels que les polysaccharides ou polyuronides, est déjà moins sensible à l'effet du chaulage, tout au moins dans les régions tempérées. Sous climat tropical, cette fraction est très rapidement dégradée après le chaulage, ce qui peut provoquer un effondrement de la structure (SCHUFFELEN et MIDDELBURG, 1954) par suite de l'accélération de la biodégradation des substances carbonées agrégatives. C'est pourquoi il faut se montrer très prudent dans l'application des amendements calciques ou magnésiens dans les sols tropicaux.

3° **Matière organique humifiée.** — On admet qu'en région tempérée, le chaulage ralentit la décomposition des substances humiques en formant des humates de Ca plus difficilement biodégradables (KONONOVA, 1961). Mais il est probable que, sous climat tropical, le chaulage entraîne une certaine stimulation de la dégradation de la matière organique humifiée.

f) **Activités enzymatiques.** — Le chaulage stimule fréquemment les activités enzymatiques du sol ; on en a donné plus haut un exemple en ce qui concerne l'uréase. Mais ce traitement peut exercer un effet dépressif sur certaines réactions enzymatiques : 1° en inhibant les enzymes par l'intermédiaire des ions Ca^{++} ou Mg^{++} qui entrent en combinaison avec les groupes actifs de ces protéines ; 2° en accélérant la biodégradation des enzymes elles-mêmes ou des substrats nécessaires à la microflore synthétisant ces enzymes. A titre d'exemple, on citera la baisse de la teneur en saccharase observée dans divers sols tropicaux à la suite du chaulage (CHAMPION et coll., 1956 ; DOMMERGUES, 1956a).

CHAPITRE III

LE FACTEUR EAU

L'humidité est un des facteurs écologiques les plus puissants, qui surclasse parfois les autres facteurs majeurs, tels que la température (cf. p. 438) ; c'est pourquoi nous y consacrerons un développement relativement important.

L'humidité règle l'activité biologique de plusieurs manières :

1° elle intervient directement puisque l'eau est indispensable au développement des organismes vivants ;

2° elle intervient indirectement :

- en modifiant les échanges gazeux,
- en transportant verticalement ou latéralement diverses substances, dont les substrats énergétiques ou certains éléments de la microflore (cellules végétatives ou spores).

L'étude des effets du facteur eau est compliquée non seulement par le fait que, dans le sol, il est, en général, impossible de dissocier son effet direct de ses effets indirects résultant de la modification des échanges gazeux, mais aussi par l'interférence de facteurs biologiques difficiles à contrôler. Il en résulte que, contrairement à ce que l'on pourrait penser *a priori*, les conditions optimales de développement d'un micro-organisme ne correspondent pas toujours à son humidité optimale déterminée sur le même sol stérile ensemencé avec le micro-organisme considéré. Ainsi, une souche qui, à l'état pur, prolifère activement à une humidité élevée, peut être inhibée dans le sol non stérile à cette humidité et, au contraire, se développer de préférence à une faible humidité par suite de l'absence de compétition dans ces conditions. Cet exemple montre que le problème des relations entre l'eau et les micro-organismes est particulièrement complexe et que son étude nécessite l'emploi de dispositifs expérimentaux portant sur le sol lui-même et non seulement sur des cultures isolées à l'état pur.

Nous disposons cependant d'un ensemble de résultats suffisamment précis et dont beaucoup se recoupent, de sorte qu'il est possible de dégager, dès à présent, les règles générales concernant le comportement de la microflore tellurique :

- aux humidités très élevées : sols hydromorphes (tension inférieure à 1/100 bar) ;
- aux humidité moyennes (tension comprise entre 1/100 et 4 bars) ;

- aux faibles humidités (tension comprise entre 4 et 400 bars) ;
- pendant la dessiccation (tension supérieure à 400 bars) et après la dessiccation.

Nous ferons précéder cette étude d'un rappel de quelques concepts fondamentaux concernant la disponibilité de l'eau dans le sol et nous terminerons par l'exposé de nos connaissances actuelles sur l'effet de l'eau en tant qu'agent de transport des substrats ou des cellules microbiennes.

A. — RAPPEL DE QUELQUES CONCEPTS FONDAMENTAUX

Dans le sol, l'eau ne se trouve pas à l'état libre mais est soumise à diverses forces de rétention qui sont essentiellement des forces matricielles (forces d'attraction et de capillarité) et des forces osmotiques.

a) *Forces matricielles.* — 1° Forces d'attraction des molécules d'eau sur les surfaces solides. — La nature dipolaire des molécules d'eau est à l'origine des *forces d'attraction qui existent entre ces molécules et les particules solides du sol*, qui se comportent comme des ions. Ces forces sont inversement proportionnelles au carré de la distance qui sépare les centres d'attraction. Au contact avec les particules solides du sol, elles atteignent une valeur très élevée ; c'est pourquoi il faut dépenser une quantité considérable d'énergie pour extraire les dernières traces d'eau du sol.

2° Forces de capillarité. — Aux forces de rétention, s'ajoutent les *forces de capillarité*, dues à un phénomène de ménisque, lié à l'existence dans le sol d'un système de tubes irrégulièrement anastomosés (pores du sol).

b) *Forces osmotiques de la solution du sol.* — Bien souvent, on peut négliger l'intervention des forces osmotiques ; mais il est indispensable d'en tenir compte :

- 1° dans les sols salés ;
- 2° dans les sols soumis à des applications massives d'engrais ;
- 3° aux très faibles humidités, puisque, dans ces conditions, la concentration des sels par unité de volume de la solution du sol, peut augmenter très sensiblement.

Pour extraire du sol l'eau dont il a besoin, chaque organisme — qu'il s'agisse d'une plante ou d'un micro-organisme — doit dépenser une quantité d'énergie suffisante pour vaincre les forces de rétention que nous venons d'énumérer. Il est donc logique que l'étude des relations entre les micro-organismes (ou les plantes) et l'eau du sol soit fondée sur la mesure de l'énergie de rétention de l'eau par le sol ou potentiel hydrique. En ce qui concerne les plantes, cette notion — dont l'intérêt est évident dans le cas particulier du point de flétrissement (cf. *infra*, p. 397) — s'est révélée particulièrement féconde.

Rappelons que le *potentiel hydrique total* ψ (total potential of soil water) ou différence d'énergie libre entre une masse unité d'eau liée au sol et la même masse d'eau libre, représente le travail qui doit être accompli pour extraire du sol cette masse d'eau. Le *potentiel hydrique total* comprend :

- le *potentiel matriciel* M (matric potential) appelé aussi *potentiel capillaire* (capillary potential) qui correspond aux seules forces matricielles ;
- le *potentiel osmotique* O (osmotic potential) qui correspond aux seules forces osmotiques ;
- le *potentiel newtonien* Z (gravitational potential).

Si l'on compare l'état de l'eau en des points situés à la même altitude, il n'y a pas lieu de tenir compte du potentiel newtonien ; si, en outre, les forces osmotiques sont négligeables, la variation du potentiel hydrique total $\Delta\psi$ est sensiblement égale à la variation de potentiel matriciel ΔM au lieu considéré. Dans la suite de cet exposé, on admettra que les forces osmotiques sont négligeables ; en conséquence, il sera seulement question de potentiel matriciel.

A la notion de *potentiel matriciel*, on substitue souvent la notion de *tension de l'eau dans le sol* (soil moisture tension) ou celle de *succion matricielle* (matrix suction). Pour évaluer la tension de l'eau dans le sol, on utilise souvent un appareil appelé *tensiomètre*, constitué par une colonne d'eau séparée du sol par une membrane semi-perméable (bougie poreuse en porcelaine) et reliée à un manomètre comme il est indiqué sur la figure 90. Plus la succion est importante et plus la dénivellation h lue sur le tube manométrique est grande. Le tensiomètre est un appareil simple ; mais il présente l'inconvénient de ne pas être utilisable aux faibles humidités.

Les trois termes de potentiel, succion et tension peuvent être employés indifféremment, à condition de se souvenir que le *potentiel* s'exprime en travail par unité de masse et la *tension* ou la *succion* s'exprime en travail par unité de volume ou, ce qui revient au même, en pression (TAYLOR et coll., 1961).

Comme la tension croît très rapidement quand on s'approche des faibles humidités, on utilise encore souvent, au lieu du chiffre de tension, exprimé en cm de hauteur d'eau, son logarithme que l'on désigne par le symbole *pF*. Le tableau LV donne les équivalences entre les *pF* et les tensions exprimées en bars pour les principales valeurs du *pF*.

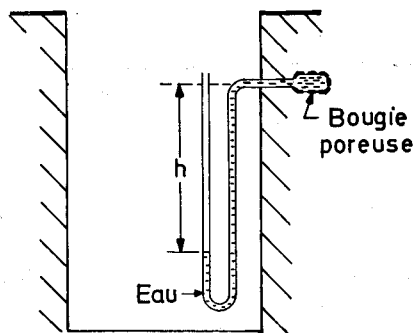


FIG. 90. — *Tensiomètre simple* : la tension est mesurée par la hauteur h de la colonne d'eau (T. J. MARSHALL, 1959).

TABLEAU LV. — TABLE D'ÉQUIVALENCE ENTRE LES PRINCIPALES VALEURS DU pF ET DE LA TENSION OU SUCCION EXPRIMÉES EN BARS

pF	BARS	
	Valeurs exactes	Valeurs arrondies*
7,0	9 800	10 000
6,0	930	1 000
5,6	390	400
5,0	98	100
4,2	15	15
4,0	9,8	10
3,6	3,9	4
3,0	0,98	1
2,5	0,31	1/3
2,0	0,098	1/10
1,5	0,031	3/100
1,0	0,0098	1/100
0	0,00098	1/1 000

N. B. — Si l'on utilise les valeurs approchées, on remarquera que l'unité employée peut être indifféremment l'atmosphère ou le bar puisque 1 atmosphère = 1,013 bar.

Au lieu de la notion de *potentiel hydrique* (ψ), on utilise parfois la notion d'*activité* (a), cette dernière grandeur étant liée à la première par la relation :

$$\psi = RT \ln a$$

où ψ représente le potentiel hydrique, R la constante universelle des gaz, T la température absolue, $\ln$ le symbole des logarithmes naturels et a l'activité. L'activité est égale à la pression relative de vapeur, qui est le rapport de la pression de vapeur de l'eau dans le sol (p) à la pression de la vapeur d'eau pure libre (p_0)

$$a = \frac{p}{p_0}$$

Le tableau LVI donne les équivalences entre les pF et l'humidité relative de l'atmosphère du sol $\frac{p}{p_0}$ exprimée en pourcentage.

Pour chaque sol, il existe une relation entre la teneur en eau (humidité du sol) et le *potentiel matriciel* ou la *tension*. On a l'habitude de représenter graphiquement la courbe correspondante — dite courbe caractéristique d'humidité ou courbe de tension en fonction de l'humidité — en portant sur un axe les humidités et sur l'autre axe le logarithme du potentiel matriciel ou de la tension ou, ce qui revient au même, le pF. La forme de la courbe caractéristique d'humidité dépend en particulier de la texture, de la teneur en matière organique et de la structure du sol considéré ainsi que de son passé (phases de dessiccation ou d'humectation).

La figure 91 représente les courbes correspondant à trois sols de texture différente avec indication des niveaux remarquables des tensions qui sont :

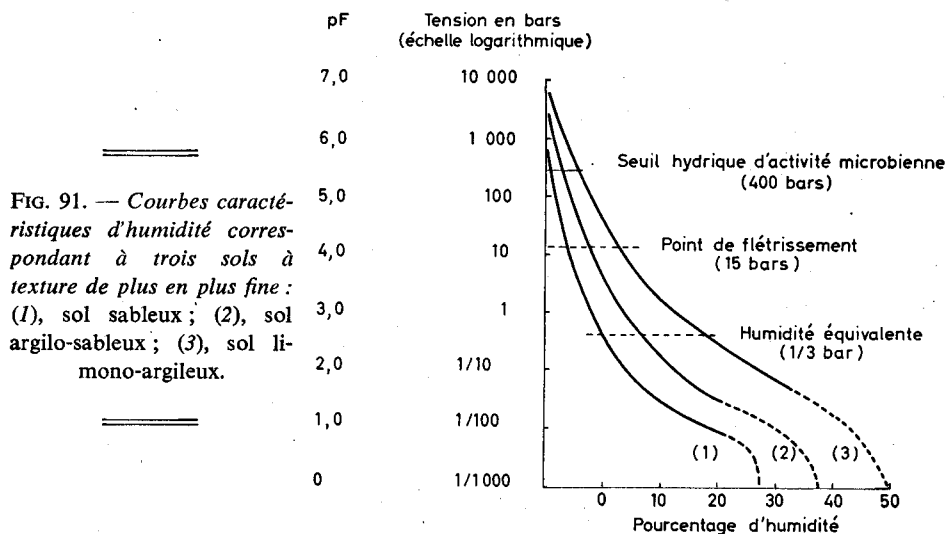
TABLEAU LVI. — TABLE D'ÉQUIVALENCE ENTRE L'HUMIDITÉ RELATIVE DE L'ATMOSPHÈRE DU SOL, LE pF ET LA TENSION EXPRIMÉE EN BARS

HUMIDITÉ RELATIVE DE L'ATMOSPHÈRE DU SOL	pF	TENSION EN BARS
50,0	6,00	980
65,0	5,78	590
70,0	5,71	502
75,0	5,62	408
80,0	5,50	310
85,0	5,36	225
90,0	5,17	145
95,0	4,86	71
97,0	4,63	41
98,0	4,45	27
99,0	4,16	14
99,5	3,84	7
99,9	3,10	1,2

a) **La tension de 400 bars** (soit approximativement 400 atmosphères ou $pF = 5,6$), tension au-delà de laquelle cesse toute activité microbienne dans le sol. Nous avons donné à ce seuil le nom de *seuil hydrique d'activité microbienne* (DOMMERGUES, 1962).

b) **La tension de 15 bars** (soit approximativement 15 atmosphères ou $pF = 4,2$), tension pour laquelle de nombreux végétaux atteignent le point de *flétrissement permanent*.

c) **La tension de 1/3 de bar** (soit approximativement 1/3 d'atmosphère ou $pF = 2,5$), l'humidité correspondante étant, pour les sols à texture moyenne et grossière, approximative-



ment égale à l'humidité équivalente⁽¹⁾. L'humidité équivalente est définie comme étant l'humidité d'un échantillon de sol qui, après avoir été saturé, est soumis pendant 30 minutes à une force centrifuge de 1 000 fois *g*.

La capacité au champ (appelée aussi *capacité de rétention*) est l'humidité d'un sol préalablement saturé et ayant subi un ressuyage de deux à trois jours, tel que les transferts d'eau par gravité ont cessé. Il n'existe pas de valeur unique de la tension caractérisant la capacité au champ, qui, suivant la texture du sol, varie entre 0,06 et 0,50 bars environ.

Parallèlement à la notion de potentiel hydrique, on attache actuellement de plus en plus d'importance, en ce qui concerne le développement des plantes, à la notion de vitesse de déplacement de l'eau vers les racines (TAYLOR et coll., 1961). Il est probable que les micro-organismes sont également sensibles à cette caractéristique, d'ailleurs étroitement liée au potentiel hydrique proprement dit. Mais il faut reconnaître que, si le problème de la disponibilité de l'eau pour les micro-organismes commence à être mieux connu dans le cas de sols en équilibre hydrique, on ne dispose encore actuellement d'aucune donnée relative au comportement de la microflore dans le cas de systèmes dynamiques tels que ceux qui s'instaurent dans des sols en cours de dessèchement, par suite d'une évaporation superficielle.

B. — COMPORTEMENT DE LA MICROFLORE TELLURIQUE AUX TRÈS FORTES HUMIDITÉS : BIOLOGIE DES SOLS HYDROMORPHES

I. — GÉNÉRALITÉS. LES TROIS TYPES D'HYDROMORPHIE

C'est sous son acception agronomique large — et non pédologique qui est plus restreinte — que nous employons ici le terme d'hydromorphie. Par *sols hydromorphes* nous entendons donc *des sols soumis à une submersion permanente ou temporaire portant sur la totalité ou une partie seulement du profil. L'hydromorphie permanente* est celle que l'on rencontre partout où la nappe d'eau présente de faibles oscillations. *L'hydromorphie temporaire* est celle qui caractérise les sols où les alternances de submersion et de ressuyage apparaissent spontanément (elles sont liées aux variations saisonnières de pluviométrie : argiles noires tropicales, par exemple) ou sous l'effet de techniques culturales particulières (rizières).

(1) On a adopté ici la terminologie fixée par le SSSA Committee on Terminology (1965).

La submersion induit un ensemble de modifications des propriétés physiques et chimiques du sol qui retentissent plus ou moins profondément sur l'équilibre micro-biologique. La réaction de la microflore à ces changements est d'autant plus vive qu'elle dispose elle-même d'un substrat métabolisable plus abondant (fig. 74) ; son activité influe à son tour sur les propriétés physiques et chimiques du sol, de sorte qu'il est souvent difficile de démêler l'origine physique, chimique ou biologique de ces transformations. Celles-ci sont régies par le potentiel d'oxydo-réduction du sol, qui est essentiellement fonction de la teneur en oxygène, mais qui est aussi sous la dépendance de divers systèmes redox où sont impliqués des ions métalliques (par exemple, le système $\text{Fe}^{++} \rightleftharpoons \text{Fe}^{+++} + e$), des gaz (par exemple hydrogène sulfuré, hydrogène) ou des composés organiques (BONNER et RALSTON, 1968).

Sur le plan biologique, l'on peut distinguer schématiquement trois types possibles d'hydromorphie en liaison avec le niveau du potentiel d'oxydo-réduction :

— l'*hydromorphie non réductrice*, correspondant à des potentiels d'oxydo-réduction élevés et à une teneur en oxygène suffisante pour le développement des processus aérobies ;

— l'*hydromorphie moyennement réductrice*, correspondant à des potentiels d'oxydo-réduction faibles et à une teneur en oxygène très faible favorisant les processus anaérobies ;

— l'*hydromorphie très réductrice*, correspondant à des potentiels d'oxydo-réduction très faibles et à des milieux totalement dépourvus d'oxygène, autorisant seulement des processus anaérobies stricts.

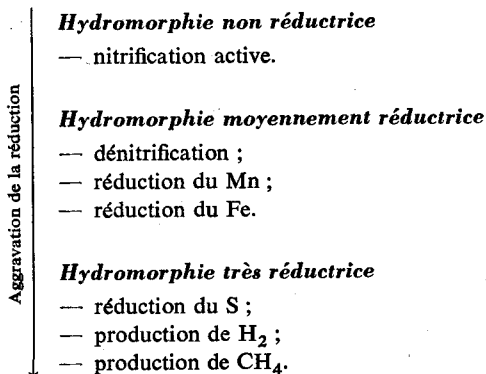
a) Hydromorphie non réductrice. — Dans ce type d'hydromorphie, la submersion n'entraîne pas une diminution sensible du Eh par rapport aux sols exondés soit parce que la nappe d'eau est oxygénée par exemple par renouvellement rapide ou par action de la flore algale ou de la végétation aquatique, soit parce que la pauvreté du sol en substrat métabolisable ne permet pas la prolifération d'une microflore qui ferait aussitôt baisser le potentiel d'oxydo-réduction. Dans l'un ou l'autre cas, des fonctions typiquement aérobies telles que la nitrification peuvent se manifester aussi bien que dans des sols ressuyés (SCHAEFER, 1966a).

b) Hydromorphie moyennement réductrice. — La submersion est ici telle que le Eh baisse très sensiblement, la dénitrification se manifeste d'abord et, lorsque les conditions réductrices s'aggravent sensiblement, la réduction du manganèse apparaît, puis celle du fer (fig. 94) (AOMINE, 1962 ; TAKAI et KAMURA, 1966). Les sols soumis à ce type d'hydromorphie sont appelés par les agronomes sols *réducteurs sains* (GREENE, 1963 ; JEFFERY, 1961) : le Riz s'y développe parfaitement.

c) Hydromorphie très réductrice. — Lorsque, par suite de l'abondance de la matière organique métabolisable, de la stagnation de la nappe liée à un mauvais drainage ou de l'absence d'agents oxydants tels que le Fe^{+++} , le potentiel d'oxydo-réduction

du sol baisse encore au-dessous du niveau correspondant à la réduction du fer, on observe le développement de processus caractéristiques d'un métabolisme anaérobie de plus en plus accentué : réduction du soufre, puis production d' H_2 et de CH_4 . Le sol soumis à un tel régime d'hydromorphie devient inapte à la culture du Riz.

On peut schématiser comme suit l'apparition des divers processus microbiens en fonction de la baisse du potentiel d'oxydo-réduction dans le sol :



II. — L'HÉTÉROGÉNÉITÉ DES SOLS HYDROMORPHES

Les sols hydromorphes présentent souvent une hétérogénéité beaucoup plus marquée que les sols exondés. Un même profil est souvent simultanément ou/et successivement le siège de réactions métaboliques caractéristiques de deux ou trois types d'hydromorphie définis ci-dessus. La description du profil de rizière typique en bon état de productivité que nous allons donner ci-dessous (fig. 92) illustre particulièrement bien cette hétérogénéité et permet déjà d'en entrevoir les conséquences sur le plan biologique.

Le profil comporte cinq horizons bien caractérisés sous une lame d'eau très généralement riche en Algues et plantes aquatiques qui fixent le CO_2 pendant le jour et en rejettent pendant la nuit, de sorte qu'en surface, l'eau passe alternativement par une phase alcaline (dans l'après-midi) et une phase légèrement acide (de bonne heure le matin) :

1° En surface, immédiatement sous la lame d'eau, un horizon brun peu épais qui correspond à la zone de diffusion de l'oxygène provenant de l'atmosphère ou dégagé par la végétation aquatique. C'est la zone d'hydromorphie non réductrice.

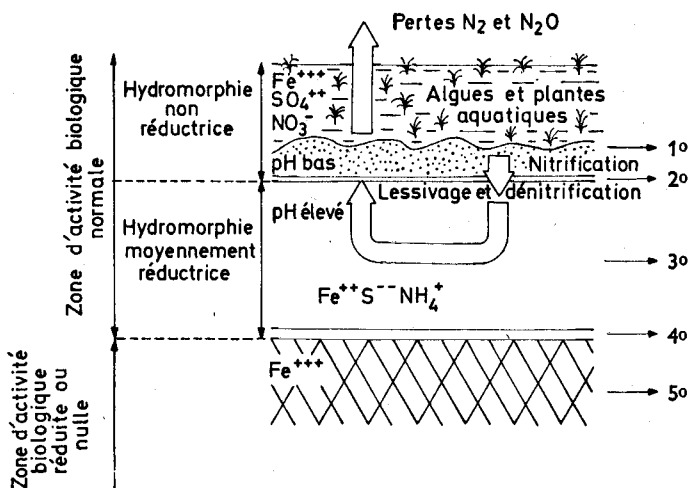


FIG. 92. — Sol de rizière dans sa phase de submersion (GREENE, 1960).

2° En dessous, un horizon très peu épais (0,5 mm) d'hydroxyde de fer précipité provenant de l'oxydation des composés ferreux, migrant vers le haut à partir de l'horizon réduit gris-bleu.

3° Un horizon réduit beaucoup plus développé que l'horizon précédent. Dans une rizière en bon état, telle que celle que nous décrivons ici, les conditions sont déjà suffisamment réductrices pour favoriser :

- la dénitrification ;
- la réduction du manganèse tétravalent en manganèse divalent ;
- la réduction du fer ferrique en fer ferreux.

4° Un horizon peu épais enrichi en Fe et Mn au contact avec l'horizon inférieur qui est oxydé.

5° Un horizon oxydé : c'est le sous-sol.

Dans de tels sols, qui présentent à la fois un horizon réduit et oxydé, les pertes d'azote gazeux sont importantes. En effet, dans l'horizon oxydé : l'ammonium est nitrifié et les nitrates migrent dans l'horizon réducteur en donnant naissance à de l'azote gazeux qui s'échappe dans l'atmosphère.

A côté de cette *hétérogénéité verticale* qui correspond à la disposition en sandwich d'un horizon réduit entre deux horizons oxydés, il existe aussi une *hétérogénéité horizontale*. Celle-ci est liée à la présence des racines. Au niveau de la rhizosphère, le régime du potentiel d'oxydo-réduction est en effet perturbé par deux processus inverses : 1° consommation d'O₂ et dégagement de CO₂ par les racines ; 2° diffusion d'O₂ par

suite du transport d'O₂ des parties supérieures de la plante vers les racines (JEFFERY, 1961 ; BARBER et coll., 1962 ; VALORAS et LETEY, 1966). Si l'effet net de ces deux processus se traduit par une perte d'O₂, il y a aggravation de l'anoxymbiose ; si, au contraire, l'effet net se traduit par un gain d'O₂, le potentiel d'oxydo-réduction s'élève localement et l'anoxymbiose perd de son intensité.

L'hétérogénéité horizontale a été également mise en évidence dans le cas de rizières en terrasse où une diffusion d'O₂ non négligeable peut se faire latéralement dans le sol par les parois des murs de soutènement (KALPAGE, 1965).

III. — SPECTRE MICROBIEN DANS LES SOLS HYDROMORPHES

L'hydromorphie, même modérément réductrice, élimine du spectre microbien⁽¹⁾ une fraction importante de la microflore fongique et des Actinomycètes. Ainsi, lors de la submersion de sols à Bananier d'Amérique Centrale, MITCHELL et ALEXANDER (1962) ont observé une disparition presque totale des Champignons au bout de onze semaines (tableau LVII). Cette réduction de la population fongique pourrait s'expliquer par l'une des hypothèses suivantes : baisse du potentiel d'oxydo-réduction, ralentissement

TABLEAU LVII. — INFLUENCE DE LA SUBMERSION SUR LA DENSITÉ DES CHAMPIGNONS
(en milliers par g de sol)
(MITCHELL et ALEXANDER, 1962)

HUMIDITÉ	0 SEMAINE	4 SEMAINES	11 SEMAINES
Capacité au champ	31,4	20,0	285,0
Submersion	31,4	7,9	1,9

des échanges gazeux, entraînant une diminution de la teneur en O₂, accumulation de CO₂ et de substances toxiques minérales ou organiques, développement d'antagonismes de nature compétitive. La production de substances antifongiques pourrait être un des facteurs décisifs de l'élimination des Champignons dans ces conditions. Sur le plan pratique, on a envisagé l'emploi de la submersion pour éliminer certains Champignons pathogènes, dont *Fusarium oxysporum* dans les bananeraies ou *Phytophthora parasitica* (SEWELL, 1965).

(¹) Cf. page 409.

IV. — CYCLE DU CARBONE

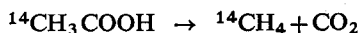
L'hydromorphie réductrice ralentit très sensiblement l'activité des Bactéries cellulolytiques et plus encore celle des Basidiomycètes (SCHAEFER, 1966a).

Sous l'influence de l'hydromorphie moyennement réductrice, la proportion des différents produits finals de dégradation est nettement modifiée par rapport à celle qui caractérise l'hydromorphie non réductrice. Alors que, dans ce dernier cas, c'est essentiellement du CO_2 qui se forme, l'hydromorphie moyennement réductrice entraîne une production assez importante d'alcools et d'acides organiques (acétique, formique, lactique, butyrique) à partir de substances telles que le saccharose, la cellulose pure, la paille de Riz.

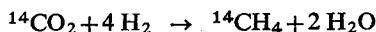
L'hydromorphie très réductrice, qui se développe rapidement en cas d'incorporation massive de substrat carboné facilement fermentescible (saccharose, amidon, cellulose, acide pectique), provoque d'abord une accélération de la production des acides organiques, suivie d'une nette régression, puis un dégagement rapide de méthane et d'hydrogène (YAMANE et SATO, 1963). Ces dégagements gazeux sont particulièrement abondants dans les sols de mangrove (cf. p. 248).

A l'aide de carbone marqué, il a été démontré (TAKAI et KAMURA, 1966) que le méthane peut provenir soit de la transméthylation de l'acide acétique, soit de la réduction du CO_2 :

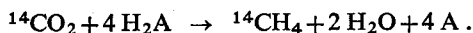
1° Transméthylation de l'acide acétique :



2° Réduction du CO_2 par l'hydrogène moléculaire :



ou couplée avec l'oxydation d'acides gras ayant plus de 2 carbones (A) :



V. — CYCLE DE L'AZOTE

a) **Fixation non symbiotique d'azote atmosphérique.** — L'hydromorphie non réductrice et l'hydromorphie moyennement réductrice s'avèrent très favorables au développement et à l'activité des micro-organismes fixateurs.

1° **Hydromorphie non réductrice.** — Les deux groupes de micro-organismes les plus actifs dans cet environnement sont d'une part les Cyanophycées fixatrices d'azote,

d'autre part les Bactéries aérobies strictes ou tolérantes telles que les *Azotobacter* et les *Beijerinckia*.

On a souligné antérieurement (p. 176) le rôle effectif des Cyanophycées dans les sols de rizière, où leur contribution à l'approvisionnement azoté du sol est souvent suffisante pour maintenir la fertilité à un niveau élevé sans qu'il soit nécessaire d'apporter des engrais azotés (WILLIS et GREEN, 1948 ; WATANABE, 1954). La parfaite adaptation des Cyanophycées aux conditions écologiques qui règnent dans la nappe d'eau de submersion explique le succès des ensemencements de rizières avec des Algues, opération qui équivalait à un apport de 20 à 50 kg N/ha (WATANABE, 1954 ; DE et MANDAL, 1956 ; OKUDA et YAMAGUCHI, 1955 ; SUBRAHMANYAN et coll., 1964).

Les micro-organismes fixateurs d'azote, tels que ceux qui appartiennent aux genres *Azotobacter* ou *Beijerinckia*, et diverses associations synergiques (cf. p. 682) font preuve d'activité dans des environnements aérobies ; mais certaines associations, espèces ou souches préfèrent des environnements appauvris en oxygène. Ainsi, avec une souche d'*Azotobacter*, PARKER (1954a) a constaté une fixation d'azote trois fois plus élevée dans une atmosphère renfermant 4 % d'oxygène que dans une atmosphère normale en renfermant 20 %. Cette remarquable tolérance de certaines souches d'*Azotobacter* à l'égard de la déficience du milieu en oxygène a été vérifiée par LE GALL et ses collaborateurs (1958), qui ont obtenu le développement de ce micro-organisme *en même temps* que *Desulfovibrio desulfuricans*.

Dans certaines conditions, la fixation biologique de l'azote en semi-anaérobiose est plus active que la fixation en aérobiose stricte ou en anaérobiose stricte (BARROW et JENKINSON, 1962).

2° Hydromorphie moyennement réductrice. — Les micro-organismes fixateurs d'azote qui interviennent dans cet environnement sont anaérobies. Les plus importants sont vraisemblablement les *Clostridium*, puisqu'on a démontré l'existence d'une corrélation positive, hautement significative, entre la fixation en anaérobiose et l'accroissement de la densité des *Clostridium* au cours de l'incubation.

L'intensité souvent assez grande de la fixation biologique d'azote en anaérobiose pourrait s'expliquer par le fait que, dans ces conditions écologiques, la dégradation des substances carbonées (cellulose, par exemple) libère en abondance des produits dont certains constituent pour la microflore fixatrice un substrat énergétique de choix, alors qu'en aérobiose l'oxydation plus poussée des composés carbonés priverait les fixateurs aérobies des substrats indispensables à leur activité (CHANG et KNOWLES, 1965).

b) Fixation symbiotique d'azote atmosphérique chez les Légumineuses. — L'écologie de la fixation symbiotique en fonction de l'hydromorphie est mal connue. Les seuls résultats dont on dispose actuellement (cf. les revues de PÉRIGAUD, 1963 ; VINCENT, 1965), concernent des expériences conduites *in vitro*, d'où il ressort notamment :

1° que la submersion est très néfaste à la fixation d'azote chez les Légumineuses, sauf chez celles qui peuvent noduler au-dessus du plan d'eau ;

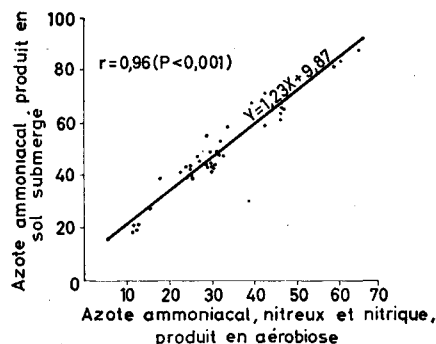
2° que la fixation fait preuve d'exigences plus strictes que la nodulation, laquelle serait moins gênée par la submersion.

Il est difficile d'extrapoler au champ de tels résultats. On peut toutefois penser que l'hydromorphie, même modérément réductrice, exclut généralement toute possibilité de fixation symbiotique alors qu'une hydromorphie non réductrice permettrait, chez certaines espèces, une fixation normale, cette faculté étant fonction de l'espèce végétale, de son cycle végétatif par rapport aux cycles de submersion et de son aptitude à noduler au-dessus du plan d'eau, aptitude que l'on rencontre chez le Trèfle blanc, mais pas chez la Luzerne.

c) **Minéralisation de l'azote.** — 1° **Hydromorphie non réductrice.** — L'hydromorphie non réductrice autorise non seulement une ammonification comparable à celle qui caractérise les sols exondés homologues, mais aussi une nitrification satisfaisante.

2° **Hydromorphie moyennement réductrice.** — Ce type d'hydromorphie ne nuit nullement à la minéralisation nette de l'azote, qui est aussi active qu'en milieu ressuyé, c'est-à-dire en aérobiose (fig. 93) ; mais la minéralisation s'arrête au stade ammoniacal,

FIG. 93. — Relation entre la production d'azote ammoniacal dans des sols submergés (hydromorphie moyennement réductrice) et la production d'azote ammoniacal, nitreux et nitrique dans les mêmes sols incubés en aérobiose (WARING et BREMNER, 1964).



et cette forme d'azote s'accumule dans le sol, car la nitrification est, en général, inhibée dans ces conditions.

Le maintien de l'activité ammonifiante à un niveau élevé lors de la submersion s'explique par le fait que la microflore ammonifiante est composée d'un nombre considérable d'espèces microbiennes, dont une partie s'accommode fort bien des conditions anaérobies ou semi-anaérobies. Il est même des sols, tels que certains sols hydromorphes tropicaux, où la minéralisation nette est plus élevée sous lame d'eau (DOMERGUES, 1962, observation non publiée), vraisemblablement parce que l'ensemble de leur microflore préfère ces conditions.

d) **Immobilisation de l'azote.** — L'immobilisation nette de l'azote semble en général moins prononcée dans les sols submergés que dans les sols exondés (WILLIAMS et coll., 1968). En ce qui concerne les nitrates, il semble qu'elle soit faible (WILLER et

DELWICHE, 1954 ; NOMMIK, 1956), mais pour l'azote ammoniacal on admet qu'elle serait plus importante (PATNAIK, 1965). Il ne faut toutefois pas attacher une valeur générale à ces résultats qu'il serait nécessaire de compléter par une étude écologique conduite dans des conditions édaphiques variées.

e) Dénitrification. — La dénitrification se manifeste dès que le Eh descend au-dessous d'un seuil encore relativement élevé, de l'ordre de 350 mV (PATRICK, 1960). Les sols à hydromorphie moyennement réductrice peuvent donc être le siège d'une dénitrification active s'ils réunissent les deux autres conditions majeures nécessaires à l'induction de la dénitrification, à savoir une teneur suffisante en matière organique facilement métabolisable et la présence d'azote nitrique.

La première condition est souvent remplie car la végétation, souvent exubérante, des sols hydromorphes met à la disposition de la microflore dénitrifiante un substrat carboné particulièrement abondant. La deuxième condition est moins souvent réalisée, mais l'est toutefois dans des cas tels que l'alternance de phases d'exondation et de submersion ou le lessivage de nitrate à l'intérieur d'un même profil. Les possibilités de dénitrification résultant du concours de ces deux facteurs sont encore accrues si le pH du sol est assez élevé ($\geq 6,0$).

En ce qui concerne les pertes d'azote par volatilisation d'ammoniac — pertes d'origine physique — on admet qu'elles peuvent exister dans les sols submergés ; elles peuvent être relativement importantes et sont favorisées par une ammonification active, un pH et une température élevés (WILLIS et GREEN, 1948 ; PATRICK et WYATT, 1964).

VI. — RÉDUCTION DU MANGANÈSE

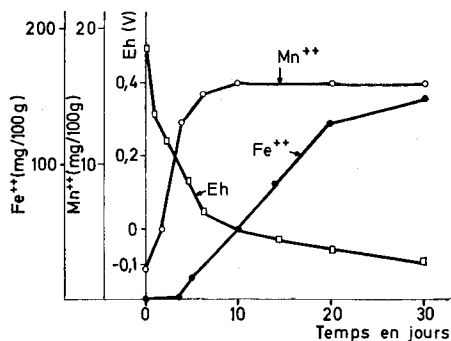
Lorsque, dans un sol hydromorphe, relativement riche en manganates, les nitrates ont disparu sous l'effet de la dénitrification, la microflore commence à réduire le manganèse. Cette réduction démarre à un Eh inférieur au Eh correspondant à la dénitrification et sensiblement supérieur au Eh qui marque le début de la réduction du fer (fig. 94).

VII. — RÉDUCTION DU FER

La réduction du fer est également typique de l'environnement moyennement réducteur. On vient de préciser qu'elle apparaît à un Eh inférieur au Eh caractéristique de la réduction du manganèse.

On a vu (p. 274) que la réduction du fer dans le sol résulte essentiellement de l'activité des micro-organismes qui utilisent le fer ferrique comme accepteur final

FIG. 94. — La submersion, en l'absence d'oxygène, d'un échantillon de sol dépourvu de nitrate entraîne rapidement la réduction du Mn^{++++} en Mn^{++} . Mais la réduction de Fe^{+++} en Fe^{++} apparaît seulement quand tout le manganèse a été réduit et quand le Eh est tombé au-dessous de 0,2 V (TAKAI et KAMURA, 1966).



d'électrons pour oxyder les substrats organiques. À côté de ce processus de *réduction directe* par les micro-organismes, il peut y avoir intervention de processus de *réduction indirecte* correspondant à la réaction sur le Fe^{+++} de substances organiques réductrices d'origine microbienne (KAMURA et coll., 1963) ; mais la réduction indirecte par des substances organiques aurait moins d'importance que la réduction directe liée à l'activité microbienne.

VIII. — TRANSFORMATIONS DU SOUFRE

Il faut que le potentiel d'oxydo-réduction descende très bas (entre 0 et -200 mV) pour que les formes oxydées du soufre minéral, notamment les sulfates, soient réduites à l'état d'hydrogène sulfuré.

L'hydrogène sulfuré *libre* est très toxique vis-à-vis de la microflore, de la microfaune et vis-à-vis de nombreuses plantes cultivées, dont le Riz (VÁMOS, 1959 ; VÁMOS et ANDO, 1960). Mais on a vu (p. 255) que cette toxicité se manifeste rarement sauf dans certains sols (rizières dégradées, par exemple), car l'hydrogène sulfuré précipite sous forme de sulfure de fer non toxique ; il pourrait aussi être réoxydé par des micro-organismes sulfo-oxydants.

Les sulfures sont particulièrement abondants dans les sols de mangrove où ils ne présentent pas d'inconvénients majeurs aussi longtemps que ces sols restent submergés ; mais l'oxydation chimique ou biologique de ces sulfures entraîne, après exondation et drainage, une baisse si importante du pH (qui descend à 2,0 ou 3,0) que la mise en valeur agricole devient très difficile (cf. p. 248).

En milieu réducteur, le soufre organique donne naissance à des composés soufrés volatils tels que le méthylmercaptan (CH_3-SH) qui est nettement toxique lorsque sa teneur dépasse un certain seuil (TAKAI et ASAMI, 1962 ; TAKIJIMA et coll., 1962 ; ASAMI et TAKAI, 1963).

IX. — PHASES SUCCESSIVES DE L'ACTIVITÉ MICROBIENNE DANS LES SOLS À HYDROMORPHIE TEMPORAIRE

Dans les sols à hydromorphie temporaire, les alternances de submersion, exondation, ressuyage, dessiccation entraînent la succession des phases suivantes :

1° phase d'hydromorphie non réductrice, souvent de courte durée, mais très nettement marquée (fig. 95) ;

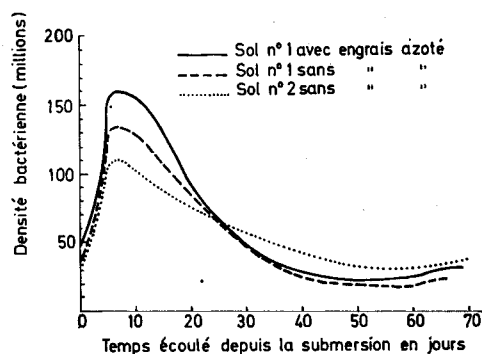


FIG. 95. — Influence de la submersion sur la densité de la microflore aérobie (VAMOS, 1959). La comparaison des courbes correspondant au sol n° 1, avec et sans engrais azoté, montre que l'apport d'engrais accentue la poussée de la microflore aérobie en début de submersion, mais ne change pas l'allure évolutive générale du phénomène.

2° phase d'hydromorphie moyennement réductrice, éventuellement suivie d'une phase d'hydromorphie très réductrice ;

3° phase de ressuyage et de dessiccation (cf. p. 415).

Les conséquences sur le plan biologique de ces alternances du régime hydrique sont évoquées page 422.

C. — COMPORTEMENT DE LA MICROFLORE TELLURIQUE AUX HUMIDITÉS MOYENNES

(Tension comprise entre 1/100 et 4 bars)

1° Le spectre microbien aux humidités moyennes ⁽¹⁾

a) **Bactéries.** — La densité des Bactéries est très sensible aux variations d'humidité (SEIFERT, 1965) ; la densité s'élève progressivement du point de flétrissement à une humidité correspondant sensiblement à une valeur comprise entre 50 et 75 % de la capacité de rétention ⁽²⁾ (SEIFERT, 1960), puis diminue un peu aux humidités plus élevées (fig. 96).

b) **Actinomycètes.** — Contrairement aux Bactéries, dont beaucoup d'espèces se développent bien aux fortes humidités, les Actinomycètes se cantonnent en principe aux humidités moyennes : lorsque l'humidité dépasse 85 % de la capacité de rétention, la densité des Actinomycètes diminue considérablement.

c) **Champignons.** — Les Champignons se montrent aussi très sensibles à l'humidité du sol. Pour la plupart, ils craignent les teneurs en eau supérieures à la capacité de rétention. Mais il existe des variations importantes entre les espèces : c'est ainsi que *Staphylotrichum coccosporum* présente un optimum hydrique correspondant à 60-70 % de la capacité de rétention alors que les *Trichoderma*, *Monilia* et *Fusarium* cellulolytiques se développent mieux à des humidités un peu plus élevées (MACIEJOWSKA et WILLIAMS, 1963).

2° Activité respiratoire du sol

L'activité respiratoire du sol présente toujours un maximum dans la bande des humidités moyennes. Ce maximum, qui est souvent très étalé (fig. 96), correspond à

(1) Le spectre microbien d'un sol reflète l'importance numérique relative des grands groupes de micro-organismes telluriques (Bactéries, Actinomycètes, Champignons). Son étude présente, sur le plan de l'évaluation des biomasses, un intérêt certain ; mais, comme on le verra à propos de l'étude d'autres facteurs écologiques (cf. p. 438), il n'y a pas nécessairement de corrélation positive entre la densité d'une micropopulation et son activité effective.

(2) Beaucoup de résultats sont encore exprimés en fonction de la capacité de rétention, au lieu d'être exprimés en tension ou en pF, ce qui est évidemment moins précis.

un pF situé en général entre 3,0 et 1,0. Contrairement à ce que l'on admet souvent, l'humidité optimale pour l'activité respiratoire, varie considérablement d'un sol à l'autre. A titre d'exemple, on signalera qu'elle correspond à 60 % de la capacité de rétention dans un sol ferrallitique de Yangambi au Congo (HILGER, 1963b), et à 120 à 160 % de la capacité de rétention dans des horizons humifères (mull et mor) de sols forestiers canadiens (BERNIER, 1960). BHAUMIK et CLARK (1947) estiment que le pF le plus favorable à la production journalière de CO_2 est de l'ordre de 1,5 (tension de 0,03 bar).

3° Cycle du carbone

La cellulolyse est plus active aux humidités moyennes qu'aux fortes humidités : ainsi SZEGI (1962) note que l'activité cellulolytique maximale correspond, dans les sols qu'il étudie, à une humidité représentant 80 % de la capacité de rétention.

La ligninolyse semble présenter des exigences hydriques encore plus strictes que la cellulolyse car la microflore responsable est plus spécialisée : il s'agit essentiellement de Champignons, notamment de Basidiomycètes, qui ont une préférence marquée pour les humidités moyennes, c'est-à-dire des tensions de l'ordre de 0,3 à 1 bar (pF de l'ordre de 2,5 à 3,0).

4° Cycle de l'azote

a) *Fixation de l'azote atmosphérique.* — La fixation libre d'azote atmosphérique est, en général, favorisée par de fortes humidités (cf. p. 404) ; mais il est certains sols où la fixation est plus active à une humidité relativement basse : c'est le cas des horizons humifères de sols forestiers, où HÜSER a mis en évidence une activité fixatrice optimale à une humidité correspondant à 30 % environ de la capacité de rétention (cf. p. 187).

b) *Ammonification.* — L'ammonification étant le fait d'une microflore abondante et diversifiée, on conçoit qu'elle soit peu sensible aux variations d'humidité. Certains auteurs admettent un optimum correspondant à 50 et 70 % de la capacité de rétention. Mais il ne faut pas généraliser cette donnée ; nous avons pu, en effet, constater que l'ammonification peut parfois être encore plus intense dans des sols très humides que dans des sols moyennement humides.

c) *Nitrification.* — La nitrification présente un optimum très net au niveau des humidités moyennes. La figure 96 concernant un sol de rendzine forestière en est un bon exemple. La tension optimale est variable puisque, suivant les sols, elle varie entre 0,1 et 1 bar (pF : 2,0 à 3,0). De nombreux auteurs (FITTS et coll., 1955 ; DOMMERGUES, 1962 ; SEIFERT, 1965) sont d'accord pour admettre que, dès que la tension tombe au-dessous de 0,05 bar (pF : 1,7), il y a réduction très sensible de la nitrification (tableau LVIII).

Ce ralentissement aux humidités plus élevées est dû, pour une grande part, à une réduction des échanges gazeux, particulièrement défavorables aux *Nitrosomonas* et *Nitrobacter*, qui sont des micro-organismes typiquement aérobies.

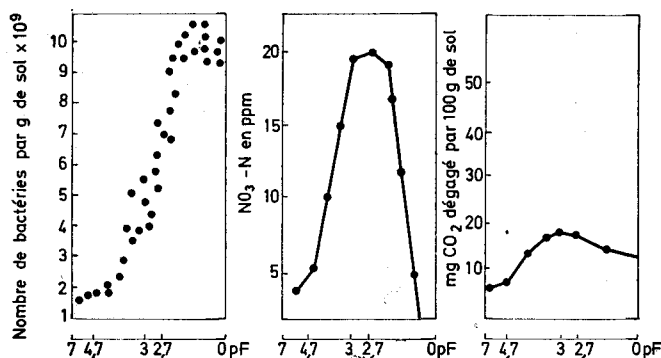


FIG. 96. — Influence du pH sur la densité totale des Bactéries, sur la nitrification et sur le dégagement de CO₂ dans une rendzine forestière de Bohême (SEIFERT, 1965).

d) **Dénitrification.** — On a vu (p. 224) que la dénitrification pouvait apparaître même à des humidités moyennes, non pas dans toute la masse du sol, mais au niveau de microhabitats particuliers, caractérisés par un ralentissement des échanges gazeux (noyaux des agrégats, par exemple).

TABLEAU LVIII. — INFLUENCE DE LA TENSION DE L'EAU DU SOL SUR L'ACTIVITÉ NITRIFIANTE EXPRIMÉE EN ppm D'AZOTE NITRIQUE APRÈS TROIS SEMAINES D'INCUBATION (FITTS et coll., 1955)

TENSION EN BARS	SOL 1	SOL 2	SOL 3	SOL 4
5,0	17	24	29	25
1,0	38	35	37	28
≈ 0,3	28	25	36	26
0,10	48	56	50	46
0,05	2	54	50	13

5° Cycle du soufre : sulfo-oxydation

Bien qu'il s'agisse d'un processus typiquement aérobic comme la nitrification, la sulfo-oxydation *semble* favorisée par des humidités moyennes plutôt élevées : en effet,

MOSER et OLSON (1953) effectuant des mesures sur des sols du Kansas de granulométrie variable (un sol châtain, un sol brun et deux sols alluviaux) ont mis en évidence des tensions optimales de sulfo-oxydation comprises entre 0,03 et 0,06 bar (pF : 1,5 et 1,8).

D. — COMPORTEMENT DE LA MICROFLORE TELLURIQUE AUX FAIBLES HUMIDITÉS

(Tension comprise entre 4 et 400 bars)

Alors que les plantes supérieures se flétrissent, pour la plupart, lorsque, au cours du dessèchement du sol, la tension atteint le seuil de 15 bars (pF : 4,2), dit *point de flétrissement permanent*, de nombreux micro-organismes telluriques peuvent encore présenter, dans ces conditions, une activité non négligeable qui ne cesse qu'à des tensions plus élevées, la limite extrême correspondant approximativement à 400 bars (pF : 5,6).

On peut expliquer cette différence de comportement entre les plantes supérieures et les micro-organismes : 1° par la pression osmotique élevée qui règne à l'intérieur des cellules de nombreuses espèces microbiennes ; 2° par le fait que les plantes supérieures perdent, par transpiration dans l'atmosphère, une partie de l'eau qu'elles absorbent alors que les pertes en eau des micro-organismes sont négligeables ; 3° par le fait que la surface d'absorption de l'eau pour une même masse protoplasmique est plus élevée pour le micro-organisme que pour la plante supérieure (GRIFFIN, 1963).

Par *seuil hydrique d'activité microbienne*, nous désignons la tension maximale au-delà de laquelle cesse la croissance ou l'activité d'un micro-organisme ou d'un groupe de micro-organismes. La valeur de ce seuil constitue une bonne mesure de la limite extrême d'utilisation de l'eau du sol par l'élément de microflore considéré. Il ne faut pas confondre ce seuil avec le seuil de résistance à la dessiccation ou *seuil léthal*, au-delà duquel le micro-organisme considéré meurt.

1° Effet des faibles humidités sur le développement et l'activité de différents groupes microbiens

L'accroissement de la tension au-delà du seuil 15 bars se traduit très généralement par un développement préférentiel des Actinomycètes et des Champignons par rapport aux Bactéries, dont les exigences hydriques sont nettement plus élevées. Le tableau LIX donne quelques exemples de seuils hydriques déterminés pour des populations bactériennes et fongiques complexes et pour différentes espèces fongiques isolées.

A la catégorie des micro-organismes les plus xérophiles, c'est-à-dire capables de se développer à des tensions supérieures à 150 à 300 bars (pF : 5,2-5,5) appartiennent la

TABLEAU LIX. — SEUILS HYDRIQUES DE POPULATIONS MICROBIENNES COMPLEXES
ET DE CHAMPIGNONS ISOLÉS
(d'après DOMMERGUES, 1962 et la revue de GRIFFIN, 1963)

	GROUPE MICROBIEN OU ESPÈCE	SEUIL HYDRIQUE EXPRIMÉ EN BARS	TEMPÉRATURE EN °C	DURÉE DE L'EXPÉRIENCE
Micropopulations complexes impliquées dans l'amyolyse	<i>Sol faiblement ferrallitique :</i> — Bactéries — Champignons	80 310	30	1 semaine
	<i>Sol d'argile noire tropicale (Pout)</i> — Bactéries — Champignons	64 203	30	1 semaine
	<i>Sol d'argile noire tropicale (Thiès)</i> — Bactéries — Champignons	98 160	30	1 semaine
Champignons isolés (seuils correspondant à la germination)	<i>Aspergillus amstelodami</i>	408	25	18 jours
	<i>Aspergillus candidus</i>	408	25	2 semaines
	<i>Aspergillus chevalieri</i>	310	25	2 semaines
	<i>Aspergillus flavus</i>	225	25	2 semaines
	<i>Aspergillus niger</i>	225	25	2 semaines
	<i>Aspergillus oryzae</i>	225	25	2 semaines
	<i>Aspergillus versicolor</i>	557	25	2 semaines
	<i>Fomes annosus</i>	71	15	9 semaines
	<i>Penicillium expansum</i>	225	25	2 semaines
	<i>Rhizopus nigricans</i>	145	20	16 jours
	<i>Rhizopus sp.</i>	145	25	2 semaines
	<i>Trichoderma viride</i>	71	25	1 semaine

plupart des *Aspergillus*, de nombreux *Penicillium* ainsi que certaines Levures du genre « *Torula* ». Les *Aspergillus* sont d'ailleurs caractéristiques des climats chauds et arides ; les *Penicillium* ont des exigences hydriques voisines, mais leur caractère moins xérophilique explique leur abondance même à des latitudes plus élevées (KOUYEAS, 1964). A ce propos, il convient de noter que l'étude de la xérophilie est compliquée par le fait que les exigences hydriques des micro-organismes peuvent varier avec la température. Ainsi, d'après BONNER (1948), *Aspergillus niger*, qui est xérophile à une température de l'ordre de 30 °C, devient hygrophile à 15 °C.

2° Cycle du carbone

Les seuils hydriques de dégradation du carbone organique dépendent essentiellement de la nature de la substance carbonée considérée. Il semble que les micro-organismes dégradant les molécules les moins complexes, telles que les glucides simples ou

même l'amidon, soient moins exigeants que les micro-organismes s'attaquant aux substances à poids moléculaire plus élevé telles que la cellulose. La biodégradation des premières substances se poursuit jusqu'à une tension de 100 à 300 bars (pF : 5,0 à 5,5) pour le glucose ou 40 à 160 bars (pF : 4,6 à 5,2) pour l'amidon, alors que la cellulose n'est pratiquement pas dégradée à des tensions supérieures à 15 bars (pF : 4,2). La composition de la matière organique du sol variant considérablement suivant les types pédologiques et la végétation, on comprend que les seuils hydriques de dégradation de cette matière organique puissent osciller entre des tensions très éloignées : 20 à 160 bars (pF : 4,3 à 5,2).

3° Cycle de l'azote

Il semble que la *fixation de l'azote* cesse dès que la tension dépasse le seuil de 15 bars ; en ce qui concerne les seuils d'activité des *Azotobacter* (micro-organismes résistant pourtant bien à l'action létale de la dessiccation) il a été montré qu'au-delà de la tension moyenne de 10 bars (pF : 4,0), ils étaient incapables de proliférer.

Par contre, l'*ammonification* reste encore active aux très faibles humidités : le seuil d'ammonification dépasse très souvent 60 bars (pF : 4,8) et peut atteindre 300 bars (pF : 5,5) dans certains sols. La possibilité d'une ammonification non négligeable aux faibles humidités est due à la grande richesse spécifique de la microflore ammonifiante, dont il existe, dans presque tous les sols, des éléments typiquement xérophiles.

La *nitrification* est plus exigeante : son intensité diminue souvent quand la tension dépasse 15 bars ; elle persiste toutefois jusqu'à 50 bars (pF : 4,7) dans certains sols tels que les sols vertisoliques de l'Afrique de l'ouest (DOMMERGUES, 1962) ou des sols latéritiques ou alluviaux d'Australie (WETSELAAR, 1968).

La disparité des seuils hydriques de nitrification et d'ammonification (fig. 97) explique bien le fait que, lors du dessèchement du sol après une pluie, la nitrification s'arrête d'abord sensiblement au point de flétrissement permanent (15 bars) tandis que l'ammonification peut se poursuivre, bien qu'à une vitesse réduite, jusqu'à une tension beaucoup plus élevée, d'où une accumulation dans le sol d'azote ammoniacal (ROBINSON, 1957 ; J. A. MEYER, 1959 ; DOMMERGUES, 1962).

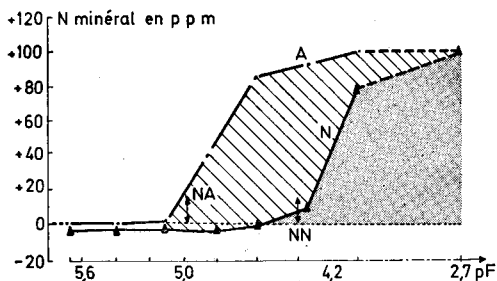


FIG. 97. — Influence du pF sur l'ammonification nette (somme des productions nettes d'azote ammoniacal et nitrique : courbe A) et la nitrification nette (production nette d'azote nitrique : courbe N) dans un vertisol sénégalais préalablement enrichi en caséine et incubé pendant 21 jours à 30 °C. La surface hachurée entre les deux courbes correspond à l'azote ammoniacal et la surface en gris à l'azote nitrique. Les emplacements des seuils hydriques d'ammonification et de nitrification sont désignés par les lettres NA et NN (DOMMERGUES, 1962).

E. — COMPORTEMENT DE LA MICROFLORE TELLURIQUE PENDANT ET APRÈS LA DESSICCATION

Au fur et à mesure que le sol se dessèche, certains horizons, notamment ceux de surface, atteignent successivement et peuvent même parfois dépasser le *seuil hydrique d'activité microbienne* qui correspond, on l'a vu page 397, à une tension approximative de 400 bars (pF : 5,6). Ce seuil marque non seulement l'arrêt de toute activité microbienne, mais aussi, lorsqu'il est franchi : 1° l'apparition d'une série de transformations de nature physique et chimique ; 2° la mort d'une fraction parfois très importante de la microflore tellurique. Nous désignons ces différentes altérations sous l'expression globale d'*effets primaires de la dessiccation*.

Lorsque le sol se réhumidifie — soit spontanément, soit par irrigation — on constate qu'il acquiert, comme après d'autres traitements induisant une stérilisation partielle (traitements chimiques, irradiation, chauffage, par exemple), de nouvelles caractéristiques, différentes de celles qu'il possédait avant la dessiccation. Ces *modifications de nature secondaire* se traduisent par une stimulation de certains secteurs de l'activité biologique ou une inhibition d'autres secteurs de cette activité.

1° Effets primaires de la dessiccation

a) *Modifications des propriétés physiques et chimiques du sol.* — Les modifications des propriétés physiques et chimiques des sols induites par la dessiccation ont été étudiées dès le début du siècle (LEBEDJANTZEV, 1924).

Après une période d'oubli, ce problème connaît depuis une dizaine d'années un regain d'intérêt avec le développement des recherches sur les sols des régions tropicales sèches ou semi-humides. On citera en particulier parmi les travaux les plus importants dans ce domaine, ceux de BIRCH en Afrique orientale (BIRCH, 1959, 1960). La dessiccation modifie certaines propriétés physiques du sol ; en particulier, elle augmente la porosité et provoque une fragmentation de la matière organique du sol, d'où accroissement de la surface exposée aux attaques ultérieures des micro-organismes ou des enzymes du sol.

La dessiccation altère profondément les caractéristiques chimiques du sol et entraîne en particulier :

1° *une augmentation de la teneur en oligosaccharides, hexoses et pentoses* (BERNIER, 1960) ;

2° *une augmentation de la teneur du sol en acides aminés* (I. L. STEVENSON, 1956 ; BERNIER, 1960 ; LIVENS, 1963 ; PAUL et TU, 1965), qui pourrait provenir, comme

l'augmentation de la teneur en sucres, des micro-organismes morts, mais peut-être aussi de la matière organique du sol lui-même (DOMSCH, 1963) ;

3° une augmentation de la teneur en azote minéral, essentiellement sous la forme d'ammonium échangeable (DROUINEAU et coll., 1953 ; DOMMERGUES, 1962 ; THERON, 1963), que nous avons étudiée antérieurement sous le nom d'ammonification non biologique (cf. p. 192).

4° une polymérisation des substances humiques ;

5° un accroissement des formes facilement assimilables de certains éléments, tels que la potasse, le manganèse, le phosphore, le soufre.

b) *Effet sur les enzymes du sol.* — La dessiccation entraîne souvent une diminution importante du taux des enzymes du sol : saccharase (DOMMERGUES, 1962 ; ROSS, 1965), amylase (ROSS, 1965). Mais certaines enzymes semblent être plus résistantes : asparaginase (MOURARET, 1965).

c) *Effet létal de la dessiccation vis-à-vis de la microflore tellurique.* — La dessiccation entraîne la mort d'une fraction parfois très importante de la microflore tellurique (fig. 98) ; mais elle n'aboutit jamais à la stérilisation complète du sol car, même dans le cas des micro-organismes les plus fragiles, il subsiste presque toujours des cellules ou microcolonies isolées qui, pour des raisons diverses, survivent très longtemps dans le sol sec. C'est grâce à de telles cellules ou microcolonies que de nombreuses espèces ne disparaissent pas complètement au cours de sécheresses prolongées (KRASILNIKOV, 1958, p. 182).

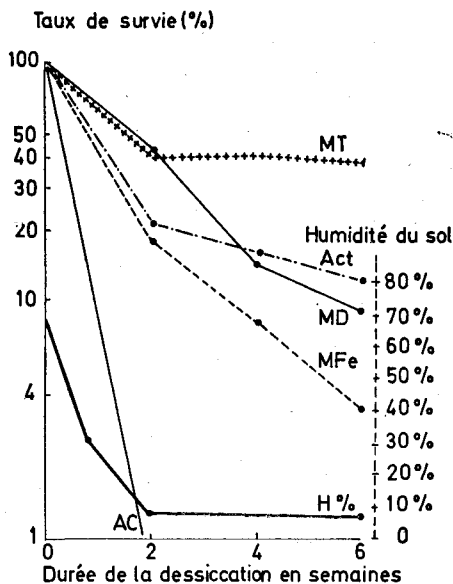


FIG. 98. — Influence de la durée de dessiccation sur le taux de survie de différents groupes microbiens dans la rendzine forestière de Bellefontaine (DOMMERGUES, 1964). Act, Actinomycètes ; AC, *Azotobacter chroococcum* (souche Bellefontaine) ; MT, Microflore totale, MD, Microflore dénitrifiante ; MFe, Microflore minéralisant le fer organique ; H %, Humidité du sol. Pour le taux de survie, on a utilisé une échelle logarithmique.

Par *taux de survie S* on désigne le pourcentage de micro-organismes qui résistent à la dessiccation considérée :

$$S = \frac{\text{Densité des micro-organismes après la dessiccation}}{\text{Densité des micro-organismes avant la dessiccation}} \times 100.$$

(ou dans le sol témoin non desséché)

Les taux de survie varient considérablement : 9 à 100 % (I. L. STEVENSON, 1956 ; KRASILNIKOV, 1958 ; SOULIDES et ALLISON, 1961). Nous avons trouvé même des taux voisins de 0 ; c'est en particulier le cas d'une souche d'*Azotobacter chroococcum* exceptionnellement sensible à la dessiccation : souche d'*A. chroococcum* de Bellefontaine, fréquente dans les rendzines forestières de l'Est de la France (DOMMERGUES, 1964) ⁽¹⁾.

La mortalité des micro-organismes sous l'effet de la dessiccation est fonction d'un grand nombre de facteurs, dont la durée et l'intensité de la dessiccation (que l'on peut exprimer en pF ou tension, par exemple), la température, la nature des micro-organismes, la présence dans le sol de substances protectrices.

1° Durée et intensité de la dessiccation. — On a établi, *in vitro*, que la mortalité était d'autant plus importante que la dessiccation est plus longue et correspond à une tension ou un pF plus élevé. Bien qu'aucune mesure n'ait été faite *in situ*, il est probable qu'en pays tropical, cet effet est d'autant plus nocif que la saison sèche est longue.

2° Température au cours de la dessiccation. — L'effet létal de la dessiccation est fonction de la température. Ainsi, diverses souches de *Beijerinckia*, éliminées par une dessiccation correspondant à une tension supérieure à 800 bars à 30 °C, résistent relativement bien à une dessiccation aussi intense mais s'exerçant seulement à 10 °C (STRIJDOM et STEENKAMP, 1967).

3° Nature des micro-organismes. — La résistance ou, au contraire, la sensibilité à la dessiccation varie considérablement d'une espèce à l'autre. Fait surprenant, il ne semble pas y avoir de rapport étroit entre la sporulation et la résistance à la dessiccation. KRASILNIKOV (1958) constate, en effet, que les Bactéries sporulées, comme les non sporulées, présentent un taux de survie très variable : dans un podzol, ce taux est de 60 à 70 % pour *B. subtilis* et *B. mesentericus*, alors qu'il atteint seulement 10 à 20 % pour *B. megaterium*. En ce qui concerne les Champignons, les hyphes sont souvent plus sensibles à la dessiccation que les spores ; mais les spores peuvent aussi souffrir de la dessiccation : ainsi le séchage d'un sol sur chlorure de calcium entraîne la mort de 88 % des spores d'une souche de *Penicillium* et 68 % des spores de *Rhizopus arrhizus* (WARCUP, 1960).

Parmi les micro-organismes les plus résistants à la dessiccation, on peut citer de nombreux Actinomycètes, de nombreuses souches d'*Azotobacter chroococcum* et *A. vinelandii* (KRASILNIKOV, 1958 ; DOMMERGUES, 1964), des Bactéries ammonifiantes

(1) A tort désigné, dans cette publication, sous le nom de *A. insignis*.

(I. L. STEVENSON, 1956), des Cyanophycées (CALDER, 1959 ; FAY et FOGG, 1962), certains *Arthrobacter* (MULDER et ANTHEUNISSE, 1963). Parmi les plus sensibles, citons *Beijerinckia indica* (DOMMERGUES, 1964).

A l'intérieur du genre *Rhizobium*, la sensibilité à la dessiccation varie nettement d'une espèce à l'autre (MARSHALL, 1964). Le cas des Bactéries nitrifiantes soulève des controverses : on peut admettre toutefois qu'en règle générale, il s'agit de micro-organismes sensibles à la dessiccation.

La résistance à la dessiccation varie non seulement d'une espèce à l'autre mais, à l'intérieur d'une même espèce, il existe des différences très importantes entre les souches. On a déjà signalé qu'à l'intérieur de l'espèce *Azotobacter chroococcum*, pourtant réputée résistante à la dessiccation, certaines souches — telle la souche de Bellefontaine — étaient au contraire très sensibles. Chez *A. vinelandi*, les variations peuvent être considérables ; ainsi une souche congolaise soumise à une dessiccation de 14 jours au pF 5,9 (tension de 800 bars) présente un taux de survie de 9 % seulement, alors que son homologue isolée au Sénégal présente, dans les mêmes conditions expérimentales, un taux de survie de 100 %.

Notons enfin que le taux de survie est fonction de l'âge de la culture, l'effet létal de la dessiccation étant plus marqué pendant la phase de croissance logarithmique (SOULIDES et ALLISON, 1961) (fig. 99).

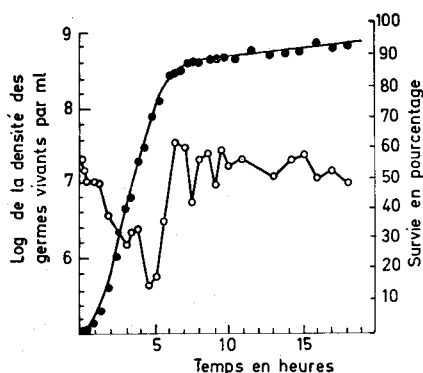


FIG. 99

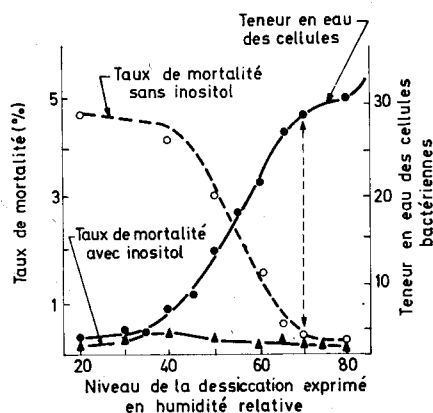


FIG. 100

FIG. 99. — Influence de l'âge des cellules d'*Escherichia coli* sur leur résistance à la dessiccation (RECORD et coll., 1962). ○ : Croissance dans le bouillon de viande à 37 °C ; ● : Pourcentage de survie après dessiccation dans le vide dans un milieu contenant 10 % de glucose + 10 % de peptone.

FIG. 100. — Influence d'un prétraitement à l'inositol sur la résistance de *Serratia marcescens* à une dessiccation de 5 h. On notera que la courbe de mortalité des cellules non traitées est symétrique de la courbe de déshydratation des cellules bactériennes (courbe de teneur en eau) (WEBB et coll., 1964).

4° **Substances protectrices.** — Dans le sol, les substances qui interviennent pour protéger les micro-organismes contre l'action létale de la dessiccation sont essentiellement les argiles et certaines fractions organiques.

On verra, page 473, que les argiles assurent une protection efficace des micro-organismes. Mais il est probable que l'effet protecteur de certaines fractions organiques du sol est encore plus marqué.

Parmi les substances protectrices efficaces contre la dessiccation, ont été plus particulièrement étudiés les sucres, les mélanges sucres-protéines et l'inositol. Ces substances protectrices interviendraient, soit au moment de la dessiccation, soit après la dessiccation lors de la réhydratation des cellules.

La protection au cours de la dessiccation observée avec l'inositol sur *Serratia marcescens* (fig. 100) pourrait s'expliquer par le maintien de l'intégrité structurale des macromolécules telles que l'ADN ou l'ARN, l'inositol prenant, dans une certaine mesure, la place de l'eau (WEBB et coll., 1964).

Les mélanges sucres-protéines interviendraient au cours de la réhydratation en évitant la formation de sphéropastes, formes bactériennes sphériques résultant de la rupture de la membrane cellulaire (RECORD et coll., 1962). En ce qui concerne les *Rhizobium*, signalons les travaux de VINCENT et ses collaborateurs (1962) sur *R. trifolii*, dont le taux de survie est considérablement amélioré pendant la dessiccation par l'utilisation de maltose à 9 %. On commence seulement à soupçonner le rôle protecteur dans le sol des substances humiques, qui n'ont pas encore été étudiées à ce point de vue. Signalons simplement le fait que les Champignons qui survivent à la dessiccation sont, pour une grande part, ceux qui se sont développés sur des particules d'humus (WARCUP, 1960).

d) Conséquences de l'action létale de la dessiccation du sol vis-à-vis de la microflore. — En détruisant ou en réduisant la densité de certains éléments de la microflore, tout en épargnant d'autres, la dessiccation modifie considérablement l'équilibre biologique du sol. L'enrichissement relatif en Actinomycètes — résultant de la résistance remarquable de nombre d'entre eux — peut, lorsque le sol retrouve son activité après réhumidification (cf. *infra* : effets secondaires de la dessiccation), favoriser ces micro-organismes, qui sont des producteurs d'antibiotiques très actifs et il est probable qu'ils interviennent alors dans le développement de la fongistase.

Inversement, la dessiccation peut parfois éliminer complètement une espèce qui, par ailleurs, dispose de conditions écologiques favorables. Tel est le cas de *Beijerinckia indica* qui, très sensible à la dessiccation, s'avère incapable de survivre à une longue saison sèche en dehors des alluvions bordant les cours d'eau où le sol se maintient tout au long de l'année à une humidité suffisante (DOMMERGUES, 1964).

Dans les sols soumis à des phases de dessiccation prolongée (régions tropicales sèches et semi-humides ; régions méditerranéennes), les progrès de la bactérisation des semences avec des cultures de *Rhizobium* ou autres engrais microbiens nécessiteront la mise au point de techniques de protection des micro-organismes introduits, ainsi que la sélection de souches particulièrement résistantes à la dessiccation.

Sur le plan médical, nous signalerons que la conservation dans le sol de micro-organismes pathogènes fragiles — tels que *Pasteurella pestis* — fait toujours l'objet de controverses (MOLLARET, 1963); il est probable qu'une meilleure connaissance des facteurs intervenant dans la protection de ces micro-organismes éclairera d'un jour nouveau ces problèmes.

Sur le plan méthodologique, nous rappellerons enfin que l'analyse biologique d'échantillons desséchés après le prélèvement ne peut donner de renseignements valables sur les micropopulations *in situ*; toute étude de terrain implique donc l'analyse des échantillons de sol *immédiatement après leur prélèvement*.

2° Effets secondaires de la dessiccation

Après une phase de dessiccation, la réhumidification du sol à un niveau d'humidité suffisant pour autoriser la reprise de l'activité biologique induit, en général, une *stimulation temporaire* de certains secteurs de cette activité par rapport à l'activité préexistante à la dessiccation : cette stimulation porte essentiellement sur le processus de minéralisation du carbone organique du sol (dégagement de CO_2), sur le processus de minéralisation de l'azote et du phosphore organiques du sol, sur le processus de dénitrification.

D'un autre côté, on observe un *ralentissement* de certains autres secteurs de l'activité biologique.

a) Stimulations secondaires. — 1° Stimulation de la minéralisation du carbone organique du sol mesurée par respirométrie. — La stimulation de l'activité respiratoire est facile à mettre en évidence *au laboratoire* en comparant l'absorption d'oxygène (ou le dégagement de CO_2) d'un sol non desséché (sol frais) et d'un même sol réhumidifié après dessiccation (fig. 101, courbes 1 et 2).

Des mesures faites *in situ* par OLSON et ses collaborateurs (1961) sur deux horizons d'un sol forestier confirment parfaitement les résultats des expériences de laboratoire. La pluie succédant à une période de sécheresse multiplie l'activité respiratoire par 15 dans l'horizon A_0 .

2° Stimulation de la minéralisation de l'azote organique. — La stimulation de la minéralisation de l'azote du sol — sous forme ammoniacale et aussi sous forme nitrique — est parfois considérable.

La stimulation est d'autant plus intense que la teneur en matière organique du sol est élevée. Ainsi la stimulation de la minéralisation induite par une dessiccation à l'air de trois semaines correspond, pour des sols renfermant 1, 2, 4, 6 et 7 % de matière organique (exprimée en carbone), à des applications respectives de sulfate d'ammoniaque de 154, 330, 462, 847, 1 452 kg/ha (BIRCH, 1960). La stimulation est souvent d'autant plus intense que la durée de la dessiccation est longue (BIRCH, 1960); mais ce n'est pas toujours le cas (CORNFIELD, 1964).

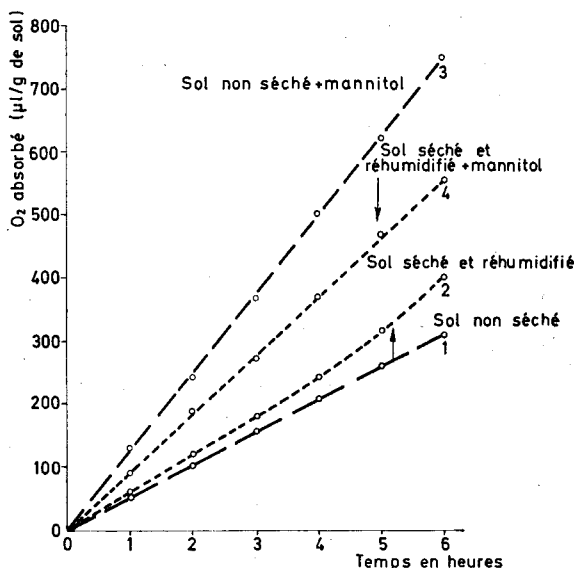
En général, la stimulation est de courte durée : il s'agit d'une poussée d'activité (flush) suivie d'une chute rapide à un niveau beaucoup plus bas pendant toute la phase humide. La stimulation se manifeste après chaque phase de dessiccation suivie de réhumidification ; en région tropicale, on l'observe régulièrement au début de la saison des pluies.

3° Stimulation de la dénitrification. — De même que la nitrification, la dénitrification est stimulée par la dessiccation préalable à la réhumidification (WILDER et DELWICHE, 1954 ; SKYRING, 1962) (tableau LXV). Cette stimulation est due essentiellement à la mise à la disposition de la microflore tellurique d'une quantité accrue de substrat facilement métabolisable. La stimulation de la dénitrification se manifeste non seulement en sol submergé, mais aussi en sol non engorgé d'eau, en raison du ralentissement de la diffusion de l'oxygène à l'intérieur des agrégats par suite de l'intensification de l'activité microbiologique dans la couche corticale de ces agrégats (cf. p. 481).

4° Origine des stimulations secondaires. — Les stimulations secondaires induites par la dessiccation ont une double origine :

a) Elles s'expliquent essentiellement par des modifications physiques et chimiques du sol décrites antérieurement (p. 415) et en particulier : 1° par un accroissement de la teneur en substrats carbonés facilement métabolisables ; 2° par un accroissement de la teneur en certains composés — sous des formes facilement assimilables — tels que l'azote minéral, libéré par ammonification biologique et non biologique (cf. pp. 188 et 192). La stimulation de l'activité respiratoire (cf. fig. 101, courbes 1 et 2) semble en grande partie due à ces deux modifications.

FIG. 101. — Influence d'une dessiccation préalable sur la respiration d'un horizon A₀ d'un sol forestier non enrichi (courbes 1 et 2) et enrichi en mannitol (courbes 3 et 4) (BERNIER, 1960). Dans le premier cas (sol non enrichi : courbes 1 et 2) il y a stimulation de l'activité respiratoire. Dans le deuxième cas (courbes 3 et 4), il y a, au contraire, ralentissement de l'activité respiratoire.



b) *Les stimulations secondaires auraient aussi une origine biologique*, mais celle-ci est encore mal élucidée. Ces stimulations pourraient s'exercer *directement* par suite du *rajeunissement* ou renouvellement des micropopulations ou par des *modifications du spectre biologique*, les espèces intervenant dans la biodégradation étant favorisées par rapport aux espèces intervenant dans les synthèses. Ces stimulations pourraient s'exercer *indirectement* : ainsi la stimulation de l'ammonification entraînerait un accroissement de la teneur du sol en azote ammoniacal favorisant les micro-organismes dégradant les composés hydrocarbonés.

b) *Ralentissement de l'activité biologique*. — On connaît quelques cas dans lesquels la dessiccation entraîne un ralentissement de la biodégradation de certaines substances. Utilisant la méthode respirométrique, BERNIER (1960) a ainsi montré que la biodégradation du mannitol était moins rapide dans un sol préalablement séché que dans un sol n'ayant subi aucune dessiccation (fig. 101, courbes 3 et 4). Cette inhibition partielle de la biodégradation consécutive à une phase de dessiccation du sol a également été observée avec d'autres substrats : caproate, acétate (DROBNIK, 1961). Malheureusement ces expériences mettant en évidence un ralentissement de l'activité biologique à la suite de la dessiccation sont difficiles à interpréter car les mesures ont porté sur des temps très courts (quelques heures).

F. — HYGROPÉRIODISME

Les sols sont soumis à des alternances climatiques liées au climat général ou à la station. Ces alternances présentent, la plupart du temps, une périodicité annuelle ; c'est le cas des vertisols en zone tropicale à une seule saison des pluies ; il en est de même pour les chernozems, qui passent chaque année, à la fonte des neiges, par une phase de saturation, puis par une phase de ressuyage et une phase de dessiccation au cours de l'été. La périodicité des alternances peut être beaucoup plus réduite : c'est le cas des sols des régions semi-arides, où les pluies sont, au cours d'une même année, séparées par plusieurs périodes sèches.

L'effet des alternances est très spectaculaire lorsque le sol passe par une phase de dessiccation, dont les effets secondaires ont été étudiés au paragraphe précédent. La stimulation de l'activité biologique est d'autant plus intense que les alternances — on dit aussi les cycles — sont plus nombreuses. Nous donnerons, à titre d'exemple, les résultats d'études expérimentales portant sur la minéralisation de la matière organique dans le sol et sur la fixation de l'azote atmosphérique.

PREMIER EXEMPLE : Stimulation de la minéralisation de la matière organique par l'hygropériodisme.

L'hygropériodisme — à condition qu'il comporte un nombre de cycles suffisant — induit une stimulation de la biodégradation telle que la matière organique du sol, pourtant souvent extraordinairement résistante aux agents biologiques (cf. p. 194), peut être, en grande partie, minéralisée.

Ainsi BIRCH et FRIEND (1961) ont obtenu, à l'aide de 204 cycles successifs de dessiccation-réhumidification, la minéralisation de 63,5 % du carbone organique, 46,4 % de

TABLEAU LX. — MINÉRALISATION DU CARBONE, DE L'AZOTE ET DU PHOSPHORE ORGANIQUES DU SOL AU COURS DE 204 CYCLES DE DESSICCATION ET DE RÉHUMIDIFICATION (BIRCH et FRIEND, 1961)

	TENEUR À L'ORIGINE	TENEUR À LA FIN DES CYCLES	POURCENTAGE DE L'ÉLÉMENT ORGANIQUE MINÉRALISÉ
Carbone organique	8,51 %	3,11 %	63,5
Azote organique	0,69 %	0,37 %	46,4
Phosphore organique	437 ppm	0 ppm	100,0

l'azote organique et 100 % du phosphore organique d'un sol (tableau LX). Il s'agit là, bien entendu, d'une expérience de laboratoire dont les résultats ne peuvent être extrapolés directement au champ, mais qui a le mérite de prouver la possibilité de l'apparition de stimulations successives dont les effets s'additionnent.

DEUXIÈME EXEMPLE : Stimulation de la fixation de l'azote atmosphérique par l'hygropériodisme.

TABLEAU LXI. — INFLUENCE DE L'HYGROPÉRIODISME SUR LA FIXATION D'AZOTE ATMOSPHÉRIQUE EXPRIMÉE EN ppm DANS UN SOL HYDROMORPHE DE L'OUGANDA (CALDER, 1959)

		HYDROMORPHIE PERMANENTE	HYDROMORPHIE TEMPORAIRE (3 à 5 cycles de dessic. et hydromorphie)
Niveau de l'hydromorphie	Saturation	483	570
	Submersion sous une lame d'eau de 2 cm	563	1 062

N. B. — Les chiffres du tableau sont les moyennes de trois essais.

D'une expérience effectuée en bacs peu profonds avec un sol hydromorphe de l'Ouganda, il résulte que trois à cinq cycles de dessiccation et de submersion ont stimulé considérablement la fixation de l'azote atmosphérique, alors que la submersion permanente a été sans effet et que les alternances de dessiccation et saturation se sont également révélées inefficaces (tableau LXI). L'auteur de cette expérience a vérifié la nature biologique de la fixation dans ces conditions, l'agent responsable étant une Cyanophycée du genre *Anaboena* dont le développement est luxuriant lors de la submersion et qui présente, d'autre part, une résistance remarquable à l'action létale de la dessiccation.

G. — L'EAU EN TANT QU'AGENT DE TRANSPORT DE COMPOSÉS MINÉRAUX ET ORGANIQUES OU DE MICRO-ORGANISMES

Les pédologues connaissent bien le rôle de l'eau en tant qu'agent de transport de certains composés minéraux, de substances organiques ou de complexes organo-métalliques. Les déplacements de ces composés ou *migrations*, qui sont classés d'après leur direction en migrations descendantes, obliques ou ascendantes, sont à l'origine de la constitution des différents horizons caractéristiques des sols, les horizons appauvris étant désignés sous le nom d'horizons d'éluviation et les horizons enrichis étant désignés sous le nom d'horizons d'illuviation ou d'accumulation. Bien entendu, de tels déplacements, lorsqu'ils concernent l'argile, par exemple, ont des incidences indirectes sur l'activité biologique du sol. Mais les migrations exercent également une influence directe sur la microflore, lorsqu'ils intéressent des substances solubles biodégradables ou, au contraire, toxiques et lorsqu'ils intéressent les micro-organismes eux-mêmes.

1° L'eau en tant qu'agent de transport des substances biodégradables ou de substances biologiquement actives

a) *Transport des substances biodégradables hydrosolubles.* — On sait que l'activité de la microflore tellurique est étroitement liée à la présence de substrats énergétiques et l'on conçoit bien, dans ces conditions, l'utilité de connaître les facteurs qui régissent la migration de ces substrats dans le sol.

En général, le transport des substances biodégradables solubles porte sur une distance faible — de l'ordre de quelques décimètres au maximum. En effet, l'eau chargée de ces substances — par exemple, sucres et acides organiques, provenant de la percolation d'une litière forestière — s'infiltre souvent dans un sol favorable à l'activité d'une microflore qui consomme rapidement ces substances.

Il est cependant des cas où ce transport intéresse des distances plus grandes — de l'ordre de la centaine de mètres ou du kilomètre. Il en est ainsi lorsque l'eau chargée des substances biodégradables traverse dans le sol des zones hostiles à certaines formes de l'activité biologique par leur acidité excessive, la présence de substances toxiques ou l'absence d'oxygène. Le transport se poursuit aussi longtemps que ces conditions défavorables persistent ; il cesse soit par suite de processus physico-chimiques, soit par suite de l'apparition de conditions écologiques favorables à la biodégradation. Le problème du transport de substances biodégradables hydrosolubles présente un intérêt particulier, en pédogenèse, lorsque ces substances sont douées d'un pouvoir complexant vis-à-vis de certains ions (cf. p. 289).

b) Lessivage de substances biologiquement actives. — Nous évoquerons ici uniquement le cas de l'éluviation (lessivage) de substances toxiques. Il a été démontré *in vitro* de façon irréfutable que le lessivage du sol par l'eau permet d'éliminer des substances hydrosolubles ralentissant certains processus biologiques. Cette restauration de l'activité microbienne par lessivage du sol est très nette en ce qui concerne la minéralisation de l'azote (HARMSSEN et VAN SCHREVEN, 1955) ; elle a également été observée pour la cellulolyse (MOURARET, 1965).

Au champ, SAUNDER et GRANT (1962) attribuent l'accroissement de la vitesse de minéralisation de l'azote, consécutive à une pluie intense suivant une période de sécheresse de quatre semaines, à cet effet bénéfique du lessivage et non à l'effet de stimulation secondaire suivant la dessiccation (cf. p. 420).

2° L'eau en tant qu'agent de transport des micro-organismes

L'eau contribue à la dispersion des espèces microbiennes dans le sol. Cette dispersion dans le sens vertical ou oblique est considérablement favorisée — dans les sols en place — par l'existence de crevasses, fissures, galeries. Ce mode de dispersion a été plus particulièrement étudié pour les spores fongiques (BURGES, 1958 ; GRIFFIN, 1963) ainsi que pour les Algues (cf. p. 54).

CHAPITRE IV

AÉRATION DU SOL

Dans le sol, l'espace libre qui se trouve entre les agrégats et les particules élémentaires (phase solide) et dont le volume total est désigné sous le terme de *porosité* (ensemble des pores) est occupé par l'atmosphère du sol (phase gazeuse) ou par de l'eau (phase liquide).

Les gaz du sol n'existent pas seulement dans la phase gazeuse, mais aussi dans les deux autres phases ; ils se présentent donc sous trois états :

1° à l'état libre, dans la phase gazeuse dont ils constituent l'ensemble et que l'on désigne sous le terme d'*atmosphère du sol* ;

2° à l'état dissous dans la phase liquide ;

3° à l'état adsorbé dans la phase solide.

L'activité biologique du sol dépend, bien entendu, de la nature et de la quantité des gaz dans chacun de ces trois états. Mais nos connaissances actuelles sont encore fragmentaires. Elles portent essentiellement sur la phase gazeuse. On attache toutefois de plus en plus d'importance à la nature et à la quantité des gaz dissous dans la phase liquide aussi appelée solution du sol : en effet, la plupart des micro-organismes actifs dans le sol, notamment les Bactéries, sont recouverts d'un film d'eau plus ou moins épais dans lequel les gaz de l'atmosphère — et notamment l'oxygène — diffusent lentement, de sorte que la concentration en oxygène à la surface d'un micro-organisme est inférieure à la concentration en oxygène à l'interface film d'eau-atmosphère. La différence entre ces deux concentrations s'accroît d'ailleurs avec l'épaisseur du film d'eau qui recouvre le micro-organisme considéré (GREENWOOD, 1963 ; STOLZY et LETEY, 1964). Quant au rôle écologique des gaz adsorbés (NH_3 , CO_2 , O_2 , N_2 , H_2S , CH_4) sur les colloïdes minéraux ou organiques du sol, il faut reconnaître qu'il est encore pratiquement inconnu.

Nous traiterons ici uniquement des variations de l'activité biologique en fonction de la composition de l'atmosphère du sol et en fonction de la quantité et de la nature des gaz dissous dans les solutions du sol.

I. — INFLUENCE DE LA COMPOSITION DE L'ATMOSPHÈRE DU SOL SUR L'ACTIVITÉ BIOLOGIQUE

1° Caractérisation de l'atmosphère du sol

Pour déterminer la composition de l'atmosphère du sol, on peut opérer soit à partir d'échantillons gazeux extraits du sol, soit à partir de l'atmosphère analysée *in situ*.

L'analyse d'échantillons de gaz extraits du sol ne présente aucune difficulté particulière car les méthodes d'analyse de gaz — polarographie ou chromatographie en phase gazeuse (VILAIN et DRUELLE, 1967) — sont bien au point ; par contre, le problème de l'échantillonnage est loin d'être résolu de façon satisfaisante. Les méthodes d'analyse *in situ* par des électrodes spéciales enfoncées dans le sol sont encore très peu répandues et ont été utilisées rarement par les biologistes du sol. La concentration de chacun des gaz composant l'atmosphère, s'exprime par un pourcentage $G\%$ que l'on peut convertir en pression partielle P_g , si l'on connaît la pression atmosphérique et la pression de vapeur d'eau :

$$P_g = \frac{(\text{pression atmosphérique} - \text{pression de vapeur d'eau}) \times G}{100}.$$

PAR EXEMPLE, si la pression atmosphérique est de 760 mm de Hg, la pression de la vapeur d'eau de 24 mm et la teneur en O_2 de 10 %, la pression partielle en O_2 est :

$$P_{O_2} = (760 - 24) \times \frac{10}{100} = 73 \text{ mm Hg}.$$

2° Composition de l'atmosphère du sol

Dans le sol, différents processus — de nature biologique pour la plupart — consomment de l'oxygène et produisent du gaz carbonique et, accessoirement, de l'azote, de l'oxyde nitreux, du méthane, de l'hydrogène, de l'hydrogène sulfuré. Mais la teneur en oxygène ne diminue pas indéfiniment et le gaz carbonique ne s'accumule pas, non plus que les autres gaz ; il s'établit un équilibre grâce au renouvellement des gaz par un mécanisme de diffusion dont le résultat final est d'homogénéiser l'atmosphère du sol. Cependant la composition de l'atmosphère d'un même sol peut varier considérablement d'un point à un autre. Ainsi à l'intérieur d'un sol apparemment bien drainé, il existe, à côté des zones dont l'atmosphère présente une composition assez proche de celle de l'atmosphère libre, des zones ou des foyers à l'intérieur desquels la composition atmosphérique est très différente en raison : 1° d'une grande lenteur de la diffusion des gaz (par exemple, bulles d'air emprisonnées entre des ménisques d'eau dans les pores) ; 2° d'une très forte production de CO_2 (rhizosphère, débris végétaux).

Il n'est pas possible de mettre en évidence cette hétérogénéité de la composition de l'atmosphère du sol si les prélèvements gazeux portent sur des volumes relativement importants. L'hétérogénéité apparaît, par contre, si les échantillons de gaz atmosphérique sont de petit volume (0,1 à 0,2 ml).

a) *Etat hygrométrique.* — Sauf dans les sols dont le pF dépasse 4,2, l'état hygrométrique de l'atmosphère est voisin de 100 %.

b) *Teneur en oxygène.* — Dans l'atmosphère du sol, la teneur en oxygène est toujours inférieure à la teneur de l'atmosphère libre (20 %). On signale fréquemment des valeurs de l'ordre de 10 à 15 % ; mais la teneur en O₂ peut tomber à 2 % seulement à proximité de racines (tableau LXII) ou dans certains horizons où la diffusion des gaz a été bloquée par les pluies ou l'irrigation (GRECHIN, 1963 ; CHAPMAN, 1965). En général, la baisse de la teneur en O₂ du sol va de pair avec une augmentation de la teneur en CO₂ ; mais ce n'est pas toujours le cas.

c) *Teneur en gaz carbonique.* — On admet que la teneur en gaz carbonique de l'atmosphère du sol est 10 à 150 fois plus élevée que la teneur de l'atmosphère libre (0,03 %) : elle varie donc entre 0,3 et 5 % en volume. Mais il s'agit là de teneurs moyennes correspondant à des sites renfermant peu de matière organique fraîche ou éloignés des racines. Des valeurs beaucoup plus élevées ont été observées dans les sites à forte activité biologique :

1° dans la rhizosphère, où le gaz carbonique peut représenter 3 à 17 % du volume total de l'atmosphère (tableau LXII).

2° lors de l'incorporation au sol de substrats susceptibles de stimuler l'activité biologique : ainsi après l'addition de poudre de Luzerne et d'autres résidus végétaux, l'atmosphère du sol renferme couramment 10 à 20 % et même exceptionnellement 30 % de CO₂ à la profondeur pourtant faible de 2 à 3 cm (CLARK, cité par PAPAIVIZAS et DAVEY, 1962).

d) *Autres gaz.* — L'atmosphère du sol renferme en général moins d'azote que

TABLEAU LXII. — COMPOSITION DE L'ATMOSPHÈRE DU SOL À PROXIMITÉ DE RACINES (d'après LEATHER, 1915, cité par CHAPMAN, 1965)

GAZ	TENEUR RELATIVE EN VOLUME (%)
Azote	73 -85
Oxygène	2,2-13,8
Gaz carbonique	3,3-17,0
Méthane	néant
Hydrogène	0,0- 1,4
Argon	0,9- 1,1

l'atmosphère libre. Elle peut renfermer aussi des quantités variables des gaz suivants :

- oxydes d'azote provenant de la dénitrification (anaérobiose modérée) ;
- méthane, hydrogène, hydrogène sulfuré (anaérobiose stricte) ;
- ammoniac provenant d'engrais ammoniacaux ou organiques appliqués à des sols basiques.

On a en outre démontré l'existence dans l'atmosphère du sol de composés volatils nutritifs ou toxiques (KRASILNIKOV, 1958), mais on n'a pas, jusqu'à présent, étudié le rôle effectif de ces substances *in situ*.

3° Facteurs influant sur la composition de l'atmosphère du sol

La composition de l'atmosphère du sol est sous la dépendance de facteurs de nature physique et de facteurs de nature biologique que nous exposerons rapidement.

a) **Facteurs de nature physique.** — Les échanges gazeux entre l'atmosphère du sol et l'atmosphère libre s'effectuent essentiellement par le mécanisme de *diffusion*. Les principaux paramètres qui règlent la diffusion des gaz dans le sol apparaissent dans le modèle mathématique simplifié suivant (BAVER, 1961) :

$$D = D_0 S \frac{l}{l_e}$$

où D est le coefficient de diffusion dans le sol ;

D_0 le coefficient de diffusion dans l'air ;

S la section des pores libres, c'est-à-dire non occupés par l'eau ;

$\frac{l}{l_e}$ le coefficient de tortuosité, qui traduit le cheminement sinueux du gaz (l étant le parcours rectiligne et l_e le parcours réel).

Ce modèle fait bien ressortir l'importance de l'*humidité* du sol, la diffusion diminuant lorsque la section des pores libres diminue, c'est-à-dire, lorsque la teneur en eau du sol augmente. Il met également en évidence le rôle de la *structure*, qui régit non seulement la porosité, mais aussi le facteur de tortuosité. On notera en outre qu'une structure défectueuse entraîne la formation à la surface du sol d'un horizon saturé d'eau qui forme écran et empêche la diffusion rapide du CO_2 accumulé en profondeur. En général, le rapport CO_2/O_2 augmente avec la *profondeur* car la diffusion des gaz est nettement plus lente en profondeur qu'en surface, où la taille des pores est plus grande.

La température enfin intervient en agissant :

1° sur la diffusion, l'élévation de température entraînant une accélération de la diffusion des gaz ;

2° sur la production biologique de CO_2 , comme on le verra à l'alinéa suivant ;

3° sur l'oxydation et la décarboxylation chimiques de la matière organique, processus qui, pratiquement, se manifestent seulement au-dessus de 44 °C.

L'accélération de la diffusion améliore le renouvellement de l'atmosphère du sol, donc joue en sens inverse de l'accélération de l'oxydation chimique et biologique qui tendent, au contraire, à enrichir l'atmosphère du sol en CO_2 .

b) **Facteurs biologiques.** — On a déjà signalé ces facteurs : ce sont d'une part les micro-organismes, d'autre part les végétaux, qui consomment de l'oxygène et en libèrent parfois (diffusion d' O_2 par les racines) et qui produisent du CO_2 ou en absorbent (cf. p. 564). La microfaune intervient également, mais son rôle est, semble-t-il, limité à ce point de vue. La plupart du temps, la production de CO_2 dépasse de beaucoup la libération d'oxygène, notamment dans les zones d'activité biologique intense : rhizosphère et sites placés à proximité de débris organiques.

Des mesures effectuées *in situ*, il résulte qu'en été, en région tempérée, la production de CO_2 (due à la végétation et aux micro-organismes) est de l'ordre de 200 à 700 mg $\text{CO}_2/\text{m}^2/\text{h}$ sous végétation forestière, 100 à 400 mg $\text{CO}_2/\text{m}^2/\text{h}$ sous culture ; en région tropicale sous culture, la production de CO_2 *in situ* peut atteindre 300 à 1 400 mg $\text{CO}_2/\text{m}^2/\text{h}$ (voir la revue de DOMMERGUES, 1968).

La production de CO_2 s'effondre lorsque la température tend vers 0 °C ; elle double sensiblement quand la température passe de 15 à 20 °C (BUNT et ROVIRA, 1955). La part de la végétation (racines) dans la production de CO_2 est très variable, mais on peut admettre que *grosso modo* elle représenterait de 1/3 à 2/3 de la production totale.

c) **Variations saisonnières.** — Les facteurs physiques — et notamment la diffusion — et les facteurs biologiques dépendent étroitement du climat du sol et notamment de sa température et de son humidité. Il en résulte que la composition de l'atmosphère du sol varie, parfois considérablement, au cours de l'année.

4° Influence de la composition de l'atmosphère du sol sur l'activité biologique ⁽¹⁾

Il y a lieu d'examiner séparément l'effet de la diminution de la teneur en O_2 et celui de l'augmentation de la teneur en CO_2 .

a) **Teneur en oxygène.** — On sait que les micro-organismes peuvent se classer en quatre groupes suivant leur comportement vis-à-vis de l'oxygène atmosphérique :

⁽¹⁾ Ce paragraphe a été rédigé avant la parution de la revue de TABAK et COOKE (1968) concernant les effets de l'environnement gazeux sur la croissance et le métabolisme des Champignons.

1° *Groupe des micro-organismes aérobies obligatoires* (ou aérobies stricts) pour lesquels l'oxygène est indispensable au développement et même à la survie.

2° *Groupe des micro-organismes anaérobies facultatifs*, qui peuvent se développer en présence ou en l'absence d'oxygène, à condition de disposer de substrats convenables.

3° *Groupe des micro-organismes anaérobies obligatoires* (ou anaérobies stricts), qui sont inhibés ou tués par des concentrations même faibles d'oxygène, vraisemblablement parce que l'oxygène provoquerait l'oxydation irréversible des transporteurs d'électrons ou permettrait la formation de peroxyde toxique.

4° *Groupe des micro-organismes micro-aérophiles*, constitué par des micro-organismes aérobies obligatoires dont la croissance est favorisée par de faibles concentrations en oxygène.

La diminution de la teneur en O_2 de l'atmosphère du sol favorise donc les micro-organismes des troisième et quatrième groupes et favorise le développement de processus anaérobies par rapport aux processus aérobies. Au lieu des termes d'aérobiose et d'anaérobiose employés très généralement, il serait préférable d'utiliser les termes d'oxybiose et anoxybiose puisqu'il s'agit en fait de distinguer des milieux en fonction de leur teneur en oxygène et non en air.

1° **Les très faibles teneurs de l'atmosphère en O_2** (inférieures à 4 et 8 %) induisent dans les solutions du sol une très faible concentration en O_2 , de sorte que les processus anaérobies se développent en particulier dans les sites où la diffusion des gaz dissous est très lente. Ainsi, dans un limon sableux, la dénitrification est déjà importante lorsque la teneur en oxygène de l'atmosphère du sol est de 7 à 8 %, mais elle est 20 fois plus intense lorsque celle-ci tombe à 1 ou 2 % (CADY et BARTHOLOMEW, 1961). Dans un sol derno-podzolique, GRECHIN (1963) estime que les processus anaérobies (notamment la réduction du fer) apparaissent lorsque la teneur en O_2 de l'atmosphère du sol s'abaisse à 2,5-5,0 %, le niveau de ce seuil variant en fonction de la température.

2° **Les teneurs moyennes de l'atmosphère en O_2** favorisent certains processus tels que :

- la fixation d'azote par les *Azotobacter* (cf. p. 165) ;
- l'humification, qui est micro-aérophile (MISHUSTIN et coll., 1964) ;
- l'immobilisation de l'azote (HÉBERT et KOTTELANNE, 1965).

3° **Teneur élevée de l'atmosphère en O_2 .** — Les processus aérobies se développent activement si les autres facteurs écologiques sont favorables ; c'est en particulier le cas de la nitrification. Comme on l'a déjà souligné (cf. p. 217), l'ammonification est, par contre, pratiquement insensible aux variations de la teneur en O_2 de l'atmosphère du sol.

b) **Teneur en gaz carbonique.** — Nous traiterons ici essentiellement du rôle du gaz carbonique en ce qui concerne les Champignons (DOMSCH, 1962 ; GRIFFIN,

1963 et 1966 ; LOUVET et BULIT, 1964). L'effet du gaz carbonique varie suivant sa teneur dans l'atmosphère du sol et suivant les micro-organismes considérés :

1° Le gaz carbonique peut être *stimulant*, ce qui se conçoit bien chez les micro-organismes photo-lithotrophes (Algues, Bactéries photosynthétiques) et chez les micro-organismes chimio-lithotrophes (Bactéries nitrifiantes, Bactéries du soufre). Cet effet peut se manifester aussi à l'égard de micro-organismes chimio-organotrophes (hétérotrophes), qui, on le sait, sont capables d'utiliser — mais jamais exclusivement — le gaz carbonique atmosphérique en dehors des sources carbonées organiques ; pour certains d'entre eux, le CO_2 serait même essentiel. La concentration gazeuse nécessaire à cette stimulation varie dans des limites assez grandes.

2° Le gaz carbonique peut aussi s'avérer *inhibiteur*, l'inhibition se manifestant à des concentrations variant considérablement suivant les espèces et certaines conditions écologiques.

1° **Stimulation.** — La concentration gazeuse nécessaire à la stimulation de la croissance mycélienne, de la germination, de la fructification et de la multiplication des Champignons varie dans des limites assez larges suivant les espèces et les souches. Ainsi, plusieurs formes de *Fusarium oxysporum* sont stimulées par des concentrations de l'atmosphère en CO_2 de l'ordre de 3 à 4 % (STOVER et FREIBERG, 1958). *Zygorhynchus vuilleminii* est favorisé par des concentrations beaucoup plus élevées : 14 % à 18 %.

2° **Inhibition.** — L'inhibition par le CO_2 se manifeste souvent au-dessus d'une concentration de 10 %. Lorsque ce seuil est franchi, de nombreux Champignons sont inhibés. On notera, en particulier, le cas de divers *Penicillium* : *P. nigricans*, *P. restrictum*, *P. spinulosum*, *Curvularia geniculata*, *Rhizoctonia* sp. (fig. 176), *Sclerotinia minor*.

Pour d'autres espèces, l'inhibition se manifeste seulement en présence de concentrations plus fortes, tel est le cas de *Penicillium rugulosum*, *Trichoderma viride*, *Mucor ramannianus*, certains *Penicillium*. Pour *Phymatotrichum omnivorum* et *Byssoscleria fulva*, le seuil toxique correspond à une concentration en CO_2 particulièrement élevée, soit 50 %. D'autres espèces enfin sont insensibles à de fortes concentrations en CO_2 , tel est le cas de *Zygorhynchus vuilleminii* (BURGES et FENTON, 1953) et de nombreux *Fusarium*. GUNNER et ALEXANDER (1964) ont même démontré que *F. oxysporum* est capable de se développer en anaérobiose stricte si le milieu où il pousse renferme de l'extrait de Levure ou des substances servant d'accepteurs d'électrons ou maintenant le Eh à un niveau assez élevé (MnO_2 , nitrates, sels ferriques).

L'indifférence de *Fusarium oxysporum* aux fortes teneurs en CO_2 explique que ce Champignon pathogène puisse attaquer les racines profondes alors que *Sclerotinia minor*, qui est très sensible au CO_2 , attaque les plantes au niveau du collet (fig. 102).

Au groupe de *Fusarium oxysporum*, c'est-à-dire des Champignons capables de vivre en profondeur, appartiennent : *Sclerotium cepivorum*, certaines souches de *Rhizoctonia solani* et surtout *Rhizoctonia violacea*. Au groupe de *Sclerotinia minor*, c'est-à-dire des Champignons provoquant la maladie du collet, car ils se développent seulement en surface, appartiennent *Sclerotinia sclerotiorum*, *Stromatinia gladioli*, *Sclerotium rolfsii*.

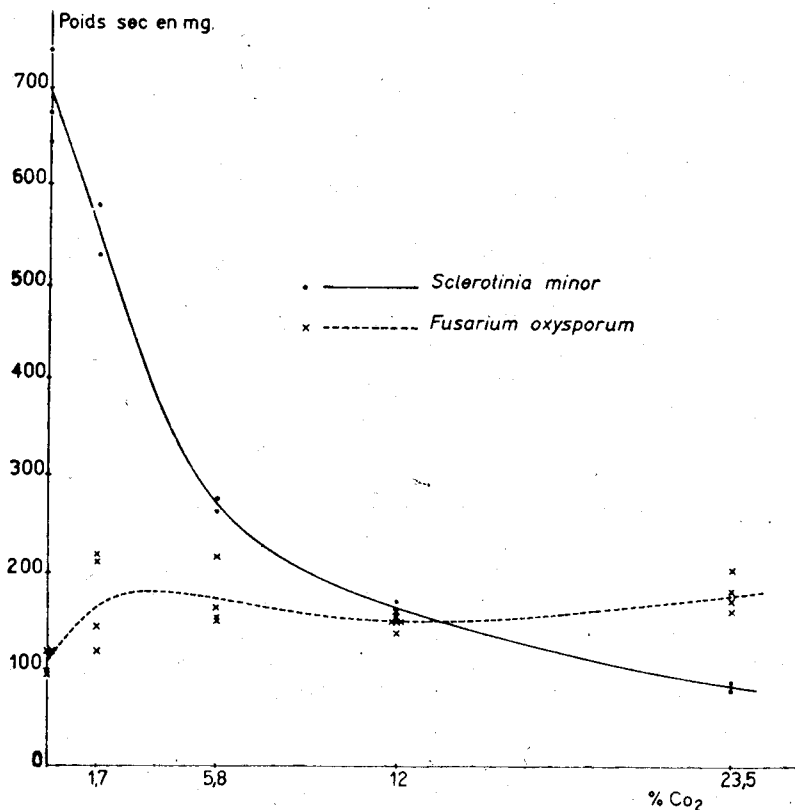


FIG. 102. — Influence de la teneur de l'atmosphère en CO₂ sur la croissance, exprimée en fonction du poids de matière sèche, d'un Champignon sensible à l'action toxique du CO₂ (*Sclerotinia minor*) et d'un Champignon tolérant (*Fusarium oxysporum*) (LOUVET et BULIT, 1964).

Le cas d'*Armillaria mellea* est intéressant à signaler : ce Champignon est en effet adapté morphologiquement à la pénétration dans des zones à faible teneur en O₂ car le centre des rhizomorphes mûrs est creux et procure ainsi à l'organisme un canal permettant une diffusion de l'O₂ vers les parties en voie de croissance (REITSMA, cité par GRIFFIN, 1963).

II. — INFLUENCE DES GAZ DISSOUS SUR L'ACTIVITÉ BIOLOGIQUE

1° Caractérisation des solutions du sol

La teneur en gaz dissous des solutions du sol à un instant donné peut être déterminée à partir d'échantillons extraits du sol. Si l'analyse chimique proprement dite ne présente aucune difficulté particulière, l'extraction, par contre, est très délicate, sauf dans le cas de sols hydromorphes où elle porte sur l'eau libre (SCHAEFER, 1966a). Les teneurs sont exprimées en ml ou mg de gaz/litre de solution ou en concentrations molaires.

Pour les mesures « *in situ* » concernant l'oxygène, les chercheurs de l'école californienne (STOLZY et LETEY, 1964) préconisent une méthode polarographique basée sur l'emploi d'une micro-électrode spéciale en platine qui permet de déterminer le *taux de diffusion de l'oxygène dans le sol*. La surface totale de l'électrode doit être couverte d'un *film d'eau*, de sorte que la mesure rend compte de la diffusion dans la solution du sol. Les taux de diffusion de l'oxygène sont exprimés en $\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{min}^{-1}$. Cette méthode, qui présente l'avantage de renseigner sur l'aspect dynamique de l'oxygénation des solutions du sol, commence à être employée par les biologistes du sol. Nous présenterons ici quelques-uns des principaux résultats publiés à ce jour.

2° Composition des solutions du sol

La solubilité de l'oxygène et celle du gaz carbonique dans l'eau étant très différentes, les solutions du sol sont caractérisées par une concentration en oxygène beaucoup plus faible et une concentration en gaz carbonique beaucoup plus élevée que l'atmosphère du sol. Ainsi, de l'eau saturée en air contient à 20 °C, $2,7 \times 10^{-4}$ M d'oxygène par litre, soit 6 ml d'oxygène par litre. Il s'agit là d'une valeur maximale qui est parfois atteinte dans des conditions particulières ; c'est le cas de la nappe de certains sols hydromorphes en hiver. Mais des concentrations de l'ordre de 1 à 2 ml d'oxygène par litre d'eau sont beaucoup plus fréquentes, même dans les sols bien oxygénés. Il est des sols — sols de marais, par exemple — où la teneur en oxygène libre des solutions du sol est nulle (YURKEVICH et coll., 1966).

3° Facteurs régissant la teneur en gaz des solutions du sol

a) *Facteurs de nature physique.* — La teneur en gaz des solutions du sol dépend :

1° de la solubilité de ces gaz, qui est elle-même fonction :

- de la nature des gaz considérés (les plus solubles sont CO_2 , NH_3 , H_2S ; l'oxygène est nettement moins soluble et l'azote très peu soluble ; cf. tableau LXIII) ;
- de la pression partielle des gaz dans l'atmosphère au-dessus de la solution ;
- de la température, la solubilité diminuant lorsque la température s'élève ;
- de la teneur en électrolytes, ceux-ci réduisant la solubilité des gaz.

TABLEAU LXIII. — SOLUBILITÉ DES GAZ BIOLOGIQUEMENT IMPORTANTS DANS L'EAU PURE EN FONCTION DE LA TEMPÉRATURE.

(Les données sont exprimées en mg/litre à la pression atmosphérique de 760 mm)
(LANGE, 1956)

TEMPÉRATURE (°C)	OXYGÈNE	GAZ CARBONIQUE	AZOTE	HYDROGÈNE SULFURÉ
0	69,4	3 346	29,4	7 066
10	53,7	2 318	23,1	5 112
20	43,4	1 688	19,0	3 846
30	35,9	1 257	16,2	2 983
40	30,8	973	13,9	2 361
50	26,6	761	12,2	1 883

2° du coefficient de diffusion des gaz, qui est environ 10 000 fois plus faible dans l'eau que dans l'atmosphère. Contrairement à la solubilité, la diffusion augmente lorsque la température s'élève.

b) *Facteurs biologiques.* — Ce sont les mêmes que ceux que nous avons signalés plus haut (p. 430).

4° Influence de la nature et de la teneur des gaz dissous sur l'activité biologique

Nos connaissances actuelles — d'ailleurs très limitées — portent, pour la plupart, sur le rôle de l'oxygène dissous, que nous examinerons ici sous son aspect statique (influence de la teneur en oxygène des solutions du sol) et son aspect dynamique (influence du taux de diffusion de l'oxygène).

a) *Influence de la teneur en oxygène des solutions du sol.* — D'après GREENWOOD (1963) les activités microbiennes sont *grosso modo* liées à la concentration en O_2 de la solution du sol par des fonctions en escalier telles que celles qui sont schématisées à la figure 103. Les activités aérobies, comme la nitrification, se maintiennent à un niveau élevé tant que la concentration en oxygène est supérieure à 4×10^{-6} M ; mais, au-dessous de ce seuil, elles sont complètement inhibées. Inversement, les activités anaérobies, comme la dénitrification, apparaissent et se maintiennent à un niveau élevé dès que la concentration en oxygène est inférieure à 4×10^{-6} M.

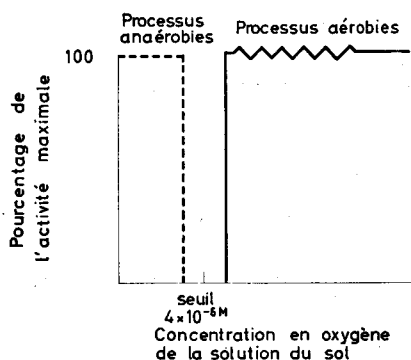


FIG. 103. — *Fonction en escalier caractéristique de l'orientation des processus microbiens sous l'influence de la concentration en oxygène de la solution du sol* (GREENWOOD, 1963).

b) Influence du taux de diffusion de l'oxygène. — Le taux minimal de diffusion de l'oxygène (oxygen diffusion rate : O.D.R.) pour le développement des processus microbiens aérobies typiques est sensiblement inférieur au taux minimal établi pour les racines de diverses plantes au champ et en serre, qui est d'environ $20 \times 10^{-8} \text{ g. cm}^{-2} \cdot \text{min}^{-1}$.

Pour la nitrification le taux minimal de diffusion serait de l'ordre de $10 \times 10^{-8} \text{ g. cm}^{-2} \cdot \text{min}^{-1}$. Au-dessus de ce seuil, la vitesse de nitrification s'accroîtrait sensiblement proportionnellement au taux de diffusion jusqu'à une valeur de $40 \times 10^{-8} \text{ g. cm}^{-2} \cdot \text{min}^{-1}$ (BRANDT et coll., 1964).

En ce qui concerne la nodulation des Légumineuses, il résulte d'essais effectués par LOVEDAY (1963), sur quatre types pédologiques distincts, que le taux minimal de diffusion aurait une valeur comprise entre 8 et $17 \times 10^{-8} \text{ g. cm}^{-2} \cdot \text{min}^{-1}$. Il s'agit là de valeurs données à titre indicatif et qui devront être confirmées par des expériences ultérieures.

c) Influence de la teneur en CO_2 . — La teneur en CO_2 dissous dans les solutions du sol exerce une influence certaine (mais encore mal connue) sur l'activité des micro-organismes telluriques.

Les faibles teneurs s'avèrent favorables au développement de certains micro-organismes, notamment les fixateurs d'azote (CACCIARI, 1966). Il est probable que les fortes teneurs sont toxiques.

III. — HÉTÉROGÉNÉITÉ DE LA DISTRIBUTION DE L'OXYGÈNE DANS LES SOLS

En général, l'on n'accorde pas assez d'importance à l'hétérogénéité de la distribution de l'oxygène dans le sol, qu'il s'agisse de l'oxygène de l'atmosphère du sol ou de l'oxygène dissous. Il s'agit pourtant là d'un fait capital qui est à l'origine de l'apparition

très fréquente dans des sols apparemment bien aérés de processus anaérobies tels que la dénitrification (cf. p. 224) ou la biosynthèse de composés toxiques à partir de litières. Dans des sols simplement saturés où la diffusion de l'oxygène est ralentie considérablement, on s'attend, bien entendu, au développement de processus anaérobies modérés tels que la dénitrification ; mais on estime, souvent à tort, que les processus anaérobies extrêmes, tels que la sulfato-réduction, sont exceptionnels. Il n'en est rien : c'est ainsi que dans des sols simplement saturés, la sulfato-réduction peut apparaître en des sites comme la rhizosphère où la consommation d'oxygène particulièrement élevée se traduit par une anaérobiose stricte (cf. p. 578).

CHAPITRE V

LE FACTEUR TEMPÉRATURE

La température du sol est fonction du rapport de l'énergie calorifique absorbée à l'énergie perdue, l'absorption de l'énergie calorifique dépendant de divers facteurs dont la végétation, la couleur et l'humidité du sol. La température du sol subit des variations journalières et des variations saisonnières, dont l'importance est beaucoup moins marquée en profondeur qu'en surface du sol.

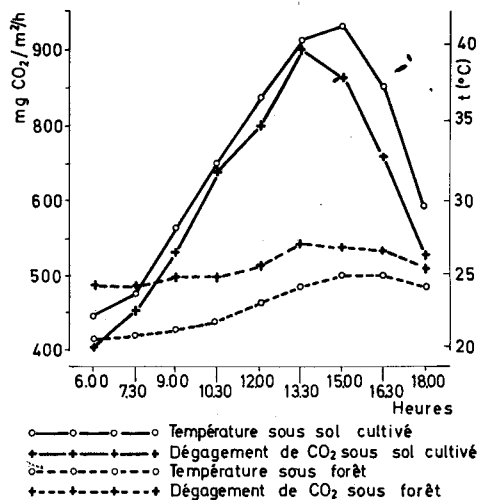
Ces variations imposent à l'*activité biologique* des variations de même période, qui peuvent facilement être mises en évidence par des méthodes respirométriques. Ainsi dans un sol ferrallitique de la cuvette congolaise, HILGER (1963b) a bien montré le parallélisme existant entre le dégagement de CO_2 et la température du sol mesurés *in situ* (fig. 104).

Par contre, il est probable que ces variations n'entraînent pas des fluctuations importantes des *densités bactériennes*, tant que le sol reste dans une gamme de températures comprises entre 2° et 22°C ; il résulte en effet d'expériences conduites par SEIFERT (1965) que, dans cet intervalle de température, c'est le facteur humidité qui prédomine. Il n'en est plus de même dans des conditions extrêmes, c'est-à-dire lorsque le sol gèle ou lorsque sa température dépasse 25°C et surtout lorsqu'il atteint des valeurs de 50 et même 65°C , que l'on rencontre en certaines saisons dans les sols tropicaux arides ou semi-arides.

I. — INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE SUR LES ÉLÉMENTS CONSTITUTIFS DE LA MICROFLORE TELLURIQUE CONSIDÉRÉS ISOLÉMENT

L'étude de ce problème autécologique comporte deux aspects; il s'agit d'une part de savoir quelles sont les températures *cardinales* (*minimales, optimales et maximales*) du *taux de croissance* et d'*activité biochimique*, d'autre part de connaître les *températures létales*.

FIG. 104. — Variations journalières de la température et du dégagement de CO_2 mesurés in situ dans un sol ferrallitique de la cuvette congolaise. Dans le sol, sous forêt, l'amplitude des variations est bien plus faible que dans le sol cultivé (HILGER, 1963b).



1° Températures optimales, minimales ou maximales du taux de croissance

Chaque souche microbienne est caractérisée par une température optimale de croissance et par un intervalle entre un minimum et un maximum en dehors duquel sa croissance est impossible. Ces caractéristiques permettent de définir quatre groupes de micro-organismes :

a) **Micro-organismes mésophiles** ou micro-organismes dont la température optimale est comprise entre 25 et 40 °C et qui ne se développent pas en dehors de l'intervalle 15-45 °C.

A ce groupe appartiennent la plupart des Bactéries et des Actinomycètes. Les Champignons s'avèrent très tolérants vis-à-vis de la température ; on peut toutefois admettre que, pour beaucoup d'entre eux, la température optimale de croissance est de l'ordre de 26 °C et la température optimale de sporulation est de 30 °C ; se rapprochent des thermophiles, les *Aspergillus* et *Trichoderma* ; se rapprochent des psychrophiles les *Penicillium*, *Cladosporium*, *Mucor*, *Cylindrocarpon* (ALEXANDER, 1961 ; REMACLE, 1963).

Contrairement aux Champignons, les Algues sont très sensibles à la température ; leurs exigences varient considérablement d'une espèce à l'autre.

b) **Micro-organismes psychrophiles** ou micro-organismes dont la température optimale de croissance est inférieure à 20 °C. Le critère « faible température optimale » qui est à la base de cette première définition a tendance actuellement à être remplacé par le critère « aptitude à se développer aux basses températures ». Nous adopterons donc, de préférence, la définition de INGRAHAM et STOKES (1959), suivant laquelle

doivent être désignés sous le terme de psychrophiles les micro-organismes qui forment des colonies visibles à l'œil nu sur boîte de Petri en moins de deux semaines d'incubation à 0 °C ou dont le temps de division à 0 °C est inférieur ou égal à 48 heures. Cette dernière définition permet d'inclure dans le groupe des psychrophiles un plus grand nombre de micro-organismes que la première ; il existe en effet très peu de micro-organismes dont l'optimum de température est inférieur à 20 °C. La température maximale de croissance des psychrophiles est inférieure à 35 °C. Les Bactéries psychrophiles du sol sont, pour la plupart, des bâtonnets gram-négatifs, en particulier des *Pseudomonas*, *Serratia* et *Aerobacter* (JANOTA-BASSALIK, 1963).

c) **Micro-organismes thermophiles** ou micro-organismes qui présentent un taux de croissance maximal supérieur à 45 °C, la température minimale étant de l'ordre de 40 °C.

D'après LAJUDIE (1963), les Bactéries thermophiles ne sont pas plus abondantes dans les sols chauds arides (Sahara) que dans les sols de région tempérée ; leur densité dans le sol semble plutôt être fonction de la teneur en matière organique, les sols les plus humifères (notamment les terreaux) étant les plus riches en thermophiles. Dans le groupe des thermophiles, on ne trouve ni *Clostridium* fixateurs d'azote, ni *Azotobacter*, ni Bactéries nitrifiantes ; par contre, on y rencontre des ammonificateurs, amylolytiques, cellulolytiques, sulfato-réducteurs, etc.

Les Champignons thermophiles qui se développent dans les composts à 50 °C disparaissent quand la température s'élève au-dessus de 65 °C.

d) **Micro-organismes thermo-tolérants ou thermophiles facultatifs** ou micro-organismes qui se développent également bien dans une très large gamme de températures comprises entre 28 et 56 °C (LAJUDIE, 1963).

En fait, cette classification est arbitraire : il existe en effet tous les intermédiaires entre les mésophiles vrais et les psychrophiles. Il y a aussi des micro-organismes qui font la transition entre les mésophiles vrais et les thermophiles : à cette catégorie appartiennent de nombreux *Aspergillus* et *Trichoderma*, ainsi qu'on l'a déjà signalé. Certains sols comportent uniquement des micro-organismes mésophiles et psychrophiles, d'autres comportent des micro-organismes appartenant à la fois à ces groupes et au groupe des thermophiles (fig. 105).

2° Températures optimales, minimales ou maximales d'activité biologique

Il n'y a pas obligatoirement coïncidence entre les températures optimales, minimales ou maximales caractérisant la croissance d'un micro-organisme donné et les températures correspondantes caractérisant certaines réactions biochimiques se déroulant dans la cellule de ce même micro-organisme.

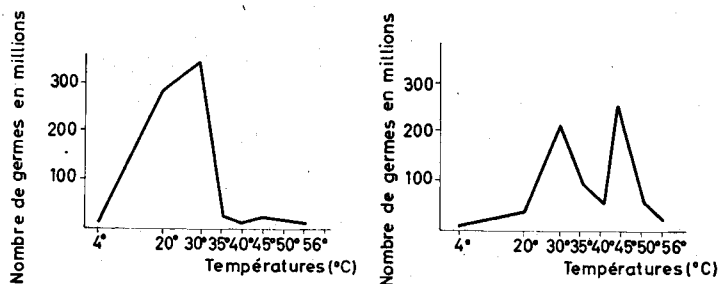


FIG. 105. — Présence d'une microflore thermophile dans les sols. SOL A : pas de microflore thermophile ; SOL B : présence d'une microflore mésophile et thermophile (LAJUDIE, 1963).

Ainsi la température optimale de croissance d'*Aerobacter aerogenes* est comprise entre 25 et 35 °C ; par contre la température optimale pour la fixation d'azote atmosphérique par ce micro-organisme est beaucoup plus faible : elle est de l'ordre de 15 à 18 °C seulement (V. JENSEN, 1956).

3° Températures létales

La *thermorésistance* ou résistance des cellules microbiennes à une exposition plus ou moins longue à des températures élevées (90°, 100° ou plus de 100 °C) varie beaucoup suivant les espèces et, à l'intérieur d'une même espèce, suivant les souches considérées. Les espèces sporulées sont plus résistantes que les espèces non sporulées ; des espèces non sporulées, mais capables de former des kystes, telles que certains *Azotobacter*, peuvent résister aux températures élevées (GARBUSKY et GIAMBIAGI, 1963). A côté de ces micro-organismes thermo-résistants, il existe de nombreuses espèces ou souches qui meurent dès que la température atteint 50 à 80 °C.

En ce qui concerne les basses températures, on notera qu'un gel lent provoque souvent la mort immédiate de certains micro-organismes ; d'autres peuvent survivre très longtemps, car, à ces températures, les réactions métaboliques sont suspendues. Rappelons à ce propos que l'une des méthodes les plus intéressantes de conservation des cultures bactériennes consiste à déshydrater sous vide les cellules préalablement très rapidement congelées : c'est la lyophilisation, qui permet de conserver les souches microbiennes plusieurs années ; malheureusement, toutes ne supportent pas ce traitement.

II. — INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE SUR LES PROCESSUS BIOLOGIQUES INTÉRESSANT LES CYCLES DE L'AZOTE ET DU CARBONE DANS LE SOL

Les températures optimales, minimales ou maximales caractérisant les micro-organismes du sol ou les processus biologiques considérés globalement (tels qu'ammonification, nitrosation, nitratisation, etc.) sont plus ou moins décalées les unes par rapport aux autres, de sorte qu'à une température donnée, certains micro-organismes ou certains processus sont favorisés ou inhibés électivement (voir, par exemple, p. 444 et p. 447).

Nous examinerons successivement l'effet des températures supérieures à 10 °C, des faibles températures (0 à 10 °C), du gel et du thermopériodisme.

1° Températures supérieures à 10 °C

a) *Activité respiratoire du sol.* — L'activité respiratoire du sol est souvent caractérisée par deux optimums thermiques (fig. 106), le premier compris entre 25 et 50 °C et le deuxième compris entre 45 et 65 °C (BUNT et ROVIRA, 1955 ; MOUREAUX, 1967). Le premier optimum est incontestablement dû à l'activité des micro-organismes mésophiles ou des mésophiles à tendance thermophile. Le deuxième optimum est dû à l'activité des micro-organismes thermophiles ; bien que certains auteurs mettent en doute le rôle, dans le sol, des thermophiles aux températures supérieures à 50 °C, il est probable que ce sont pourtant ces micro-organismes qui interviennent et non des processus d'oxydation chimique : en effet, aux optimums thermiques respiratoires correspondent des optimums thermiques de glycolyse ou d'ammonification, qui ont sensiblement les mêmes valeurs.

Par rapport aux sols tempérés, les optimums thermiques des sols tropicaux sont décalés vers les températures élevées.

b) *Dégradation du glucose, de la cellulose et de la lignine.* — Il s'agit là encore de processus caractérisés dans beaucoup de sols par deux optimums thermiques, le deuxième correspondant à l'activité de micro-organismes thermophiles, glycolytiques, cellulolytiques ou ligninolytiques.

c) *Fixation libre d'azote.* — Il est probable qu'au-dessus de 40 °C, la fixation d'azote *in situ* est fortement réduite, car les *Azotobacter* et *Clostridium* fixateurs d'azote sont des micro-organismes mésophiles (RUBENCHIK, 1960 ; LAJUDIE, 1963) ; les *Azotobacter* semblent particulièrement sensibles aux températures supérieures à 40-45 °C :

— certaines souches peuvent être détruites par simple chauffage de 30 minutes à 45 °C (RUBENCHIK, 1960) ;

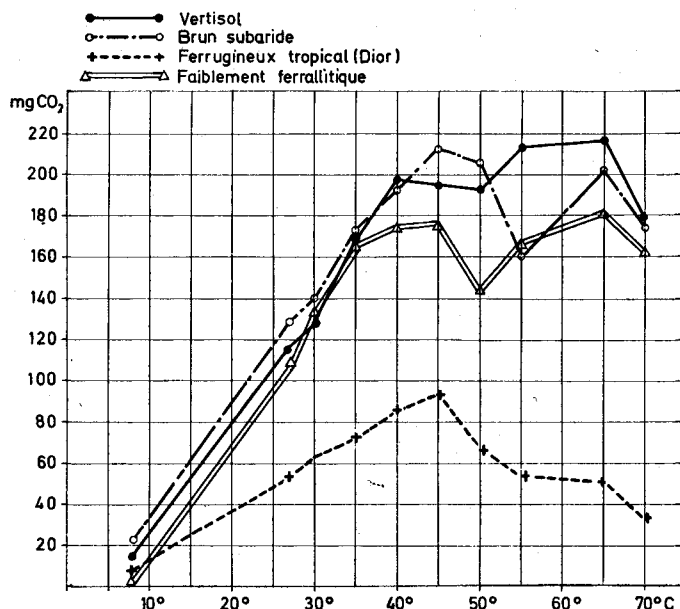


FIG. 106. — Influence de la température sur le dégagement de CO_2 , de quatre sols ouest-africains correspondant aux types pédologiques suivants : vertisol, sol brun subaride, sol ferrugineux tropical (Dior), sol faiblement ferrallitique (MOUREAUX, 1967). Le dégagement de CO_2 est exprimé en mg de CO_2 dégagé par 100 g de sol au cours d'une incubation de sept jours.

— des souches thermorésistantes peuvent perdre leur pouvoir fixateur par exposition longue (deux semaines) à 45 °C (ISWARAN et ABHISWAR SEN, 1958).

d) **Fixation symbiotique d'azote.** — La fixation symbiotique d'azote chez les Légumineuses est favorisée par les températures moyennes. Ainsi, il a été démontré que dans les régions septentrionales de la Nouvelle-Zélande, la fixation d'azote par le Trèfle blanc est de 400 à 550 kg N/ha/an alors que dans le Sud, plus froid, elle est seulement de 220 à 275 kg N/ha/an (JAIYEBO et MOORE, 1963) ; l'agriculteur devra, dans les sols froids, favoriser l'échauffement par toutes les techniques dont il dispose.

Les températures trop élevées sont défavorables à la fixation symbiotique d'azote chez les Légumineuses :

1° Les *Rhizobium* sont des micro-organismes mésophiles : même les souches tropicales présentent des températures maximales de croissance ne dépassant pas 35 °C en moyenne.

2° La nodulation et la fixation d'azote dans le nodule sont en général fortement inhibées ou même supprimées au-delà de 30 °C (cf. p. 627).

Les *Rhizobium* ne sont pas thermorésistants : pour de nombreuses souches, la densité diminue dès 50 °C et s'effondre à 70 °C dans les sols pauvres en colloïdes protecteurs (MARSHALL, 1964).

e) Ammonification. — Comme la glycolyse et tous les autres processus qui sont le fait d'une microflore très diversifiée sur le plan spécifique, l'ammonification présente fréquemment deux maximums thermiques : un maximum dans la gamme des températures moyennes et un maximum dans la gamme des températures élevées, ce deuxième maximum correspondant souvent à une activité plus grande que le premier maximum. Dans les sols caractérisés par un seul maximum, celui-ci est, en général, de l'ordre de 60 °C.

f) Nitrification. — Sauf très rares exceptions, la nitrification présente un seul optimum thermique qui, en règle générale, est d'autant plus élevé que le climat est chaud. Ainsi l'optimum est de 25 °C pour les sols des états du nord des Etats-Unis et de 35 °C pour les états du sud (MAHENDRAPPA et coll., 1966). Sous les tropiques, on a signalé fréquemment des températures optimales de l'ordre de 40 °C (MEYER, 1963 ; MOUREAUX, 1967). Les températures maximales sont de l'ordre de 40 °C dans les sols tempérés et pourraient atteindre 45 °C dans les sols tropicaux.

Aux températures supérieures à 30 °C, comme aux basses températures, il y a parfois accumulation de nitrites dans le sol, car les *Nitrosomonas* sont plus tolérants aux températures élevées (et aussi aux basses températures) que les *Nitrobacter* (JUSTICE et SMITH, 1962).

En ce qui concerne les températures létales, elles seraient, pour une exposition de 10 minutes, de 53 à 55 °C pour *Nitrosomonas*, de 56 à 58 °C pour *Nitrobacter* d'après GIBBS (1919). Il s'agit là de valeurs qui intéressent les souches étudiées par cet auteur, mais qui pourraient être différentes pour d'autres souches.

g) Dénitrification. — De nombreux sols sont caractérisés par deux maximums thermiques de dénitrification, le premier correspondant à l'activité des mésophiles et le deuxième à l'activité des thermophiles. Ce deuxième maximum s'établit aux environs de 60 à 65 °C ; il correspond souvent à une activité plus intense que le maximum des mésophiles (NOMMIK, 1956 ; BREMNER et SHAW, 1958).

La dénitrification intense qui se manifeste à température élevée ne résulte vraisemblablement pas seulement de l'effet direct de la température, mais aussi de son effet indirect sur la solubilité de l'oxygène.

h) Biodégradation de la matière organique fraîche et humifiée et de divers composés. — La vitesse de décomposition de la matière organique fraîche est très sensible à la température. Ainsi pour une élévation de température de 1 °C, la vitesse de décomposition de la litière d'espèces forestières caduques (USA) augmente de 1,8 %, celle d'aiguilles de Pin augmente de 1,75 % et celle de feuilles de Bouleau (Finlande) augmente de 2,4 % (OLSON et coll., 1961). Cet effet favorable d'une tempéra-

ture élevée sur la vitesse de décomposition de la matière organique fraîche explique qu'en région tropicale humide les litières forestières se décomposent 10 à 50 fois plus vite qu'en région tempérée, sauf intervention de facteurs inhibiteurs.

En milieu suffisamment humide, les températures comprises entre 30 et 40 °C stimulent considérablement la biodégradation des substances humiques : il en résulte que, sous climat tropical humide, l'agronome a souvent des difficultés à maintenir à un niveau suffisant le stock humique des sols.

Les températures comprises entre 30 et 40 °C favorisent aussi la biodégradation de substances apportées au sol tels que les pesticides ou les inhibiteurs de dénitrification ; cette stimulation de la biodégradation a souvent pour corollaire une diminution de l'efficacité des produits appliqués.

2° Faibles températures (comprises entre 0 et 10 °C)

L'activité biologique du sol est fortement freinée lorsque la température tombe au-dessous de 10 °C ; mais elle est parfois loin d'être négligeable.

a) **Activité respiratoire.** — Pendant l'hiver, en région tempérée, l'activité respiratoire est très faible, mais, même au voisinage de 0 °C, elle n'est pas nulle (TAMM et KRZYSCH, 1963). A 10 °C l'activité respiratoire de trois sols subantarctiques représente encore 30 à 80 % de l'activité respiratoire à 25 °C (BUNT et ROVIRA, 1955).

b) **Dégradation de la cellulose et de la lignine.** — Elle devient très lente lorsque la température baisse au-dessous de 5 ou 7 °C.

c) **Fixation libre d'azote.** — Bien que fortement réduite au-dessous de 10 °C, la fixation d'azote par certains micro-organismes, tel *Aerobacter aerogenes*, est encore possible (V. JENSEN, 1956). La température minimale de croissance d'*Azotobacter chroococcum* est comprise entre 7 et 10 °C (RUBENCHIK, 1960).

d) **Fixation symbiotique d'azote.** — Il est probable que la fixation symbiotique d'azote par les Légumineuses tempérées est négligeable au-dessous de 10 °C ; il n'en est, sans doute, pas de même dans les sols arctiques ou antarctiques où de nombreuses espèces de Légumineuses sont pourvues de nodosités fonctionnelles, ce qui implique qu'il existe des symbioses *Rhizobium*-Légumineuses adaptées à ces conditions climatiques très sévères (KRASILNIKOV, 1958 ; E. K. ALLEN et coll., 1964).

e) **Ammonification.** — La microflore ammonifiante est encore très active au-dessous de 10 °C. Ainsi, un sol sablo-humifère de Bretagne incubé pendant un mois à 5 °C à 60 % de la capacité au champ libère une quantité d'azote minéral (essentielle-ment de l'azote ammoniacal) qui représente 50 % de l'azote minéralisé à 28 °C (tableau LXIV).

TABLEAU LXIV. — MINÉRALISATION DE L'AZOTE ORGANIQUE
DANS UN SOL SABLO-HUMIFÈRE INCUBÉ À FAIBLE TEMPÉRATURE (5 °C)
ET À UNE TEMPÉRATURE MOYENNE (28 °C)
(JOLIVET et HÉLIAS, 1953)

TEMPÉRATURE D'INCUBATION	AZOTE MINÉRALISÉ EN 1 MOIS EXPRIMÉ EN PPM		
	N—NH ₄	N—NO ₃	N—NH ₄ + N—NO ₃
5 °C	9,3	5,7	15,0
28 °C	3,7	26,7	30,4

Des résultats de même nature ont été obtenus par BERNIER et ROBERGE (1962) avec différents humus forestiers canadiens : dans un mor, l'ammonification à 5 °C représente 10 % de l'ammonification à 20 °C ; dans un moder, ce pourcentage atteint 68 % et dans un mull 46 %

f) **Nitrification.** — Aux faibles températures, la nitrification est moins intense que l'ammonification, d'où accumulation d'azote ammoniacal, qui ressort très bien de l'examen du tableau LXIV et des travaux de SCHAEFER (1964a). Dans certains cas, il y a accumulation de nitrite car les *Nitrosomonas* sont plus tolérants sur le plan thermique que les *Nitrobacter* (JUSTICE et SMITH, 1962 ; GASSER, 1964). Il est de nombreux sols où la nitrification se manifeste encore à 5 °C ; dans un sol limoneux du Canada, CHANDRA (1962) estime que la nitrification à 5 °C représente 29 % de la nitrification à 27 °C ; dans les humus forestiers canadiens dont il a été question plus haut, la nitrification à 5 °C représente 6 % de la nitrification à 20 °C dans le moder et 15 % dans le mull (BERNIER et ROBERGE, 1962).

La nitrification en hiver n'est donc pas négligeable, notamment lorsque la température se maintient au-dessus de 3 à 5 °C. Pour éviter ses inconvénients (pertes par lessivage et dénitrification) on a préconisé l'application d'inhibiteurs de nitrification (cf. p. 209).

g) **Dénitrification.** — Elle apparaît à basse température. La température minimale serait de l'ordre de 2 à 3 °C. Il y a donc possibilité de dénitrification pendant la période froide de l'année, au cours de laquelle les plantes n'absorbent pas de nitrates. Aux basses températures l'oxyde nitreux (N₂O) serait produit en plus grande quantité que l'azote (NOMMIK, 1956).

h) **Immobilisation de l'azote minéral.** — Lorsqu'un sol enrichi à la fois en azote minéral (marqué) et en une substance organique à C/N élevé et facilement métabolisable est mis à l'incubation à une température moyenne, c'est-à-dire comprise entre

20 et 35 °C, on observe deux phases en ce qui concerne la teneur en azote minéral du sol :

— *première phase de courte durée* (1 à 2 semaines) pendant laquelle se manifeste une immobilisation intense de l'azote minéral ;

— *deuxième phase beaucoup plus longue*, pendant laquelle la teneur du sol en azote minéral remonte pour atteindre ou dépasser le niveau initial car il y a à nouveau une légère minéralisation de l'azote (marqué) immobilisé et surtout minéralisation importante de l'azote organique (azote non marqué) préexistant dans le sol (cf. fig. 107, courbes b et c).

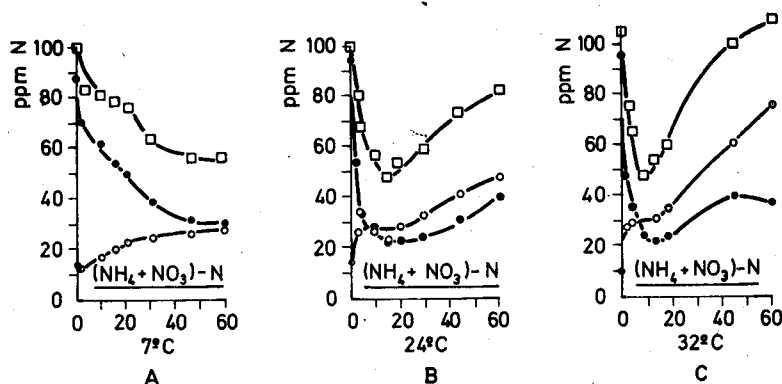


FIG. 107. — Influence de trois températures d'incubation différentes (7°, 24°, 32° C) sur la teneur d'un limon argileux en azote minéral (azote ammoniacal+azote nitrique) : marqué (●), non marqué (○), marqué et non marqué (□). Le sol a été enrichi préalablement en sulfate d'ammoniaque marqué et en paille (BROADBENT, 1966).

Lorsque l'incubation a lieu à une température inférieure à 10 °C, on observe un ralentissement des processus, tel que la deuxième phase n'apparaît pas, même au bout de deux mois d'incubation ; tout se passe, en définitive, comme si l'immobilisation était favorisée par rapport à la minéralisation (cf. fig. 107, courbe a).

3° Gel

Comme la dessiccation, le gel altère certaines propriétés physiques et chimiques du sol et il détruit une fraction des micro-organismes telluriques. A ces effets primaires, s'ajoutent des effets secondaires qui se manifestent après le dégel, lorsque le sol retrouve des conditions thermiques favorables à son activité biologique.

a) Effets primaires du gel. — 1° Effets sur les propriétés physiques et chimiques.

— Le gel modifie certaines propriétés physiques du sol : capacité au champ, porosité, structure. L'éclatement des agrégats sous l'action du gel rend accessibles des éléments nutritifs et énergétiques facilement métabolisables par la microflore : c'est ce qui explique que l'effet du gel est plus marqué sur les sols à structure grossière que sur les sols à structure fine (SEIFERT, 1963a ; SCHAEFER, 1964a).

2° Effet sur les enzymes du sol. — Le gel inactive partiellement certaines enzymes telles que la saccharase ou l'amylase (ROSS, 1965). Il est évident que ces modifications induisent, après le dégel, une nouvelle orientation de l'activité biologique des sols.

3° Effet létal du gel. — Le gel tue une partie des micro-organismes telluriques ; mais son effet létal est moins marqué que celui de la dessiccation : le pourcentage des micro-organismes tués par le gel dans le sol dépasse rarement 50 % ; il est souvent seulement de l'ordre de 10 à 20 %, alors que la dessiccation détruit souvent 80 à 90 % des micro-organismes telluriques. Un gel succédant à un autre gel n'entraîne pratiquement aucune destruction supplémentaire, vraisemblablement parce que le premier gel élimine tous les micro-organismes incapables de supporter ce traitement.

Le taux de létalité des micro-organismes telluriques soumis au gel dépend de nombreux facteurs :

a) sensibilité des différentes souches microbiennes au gel. — Une fraction de la microflore tellurique résiste bien au gel ; c'est ce qui explique la présence dans les sols qui sont gelés une partie de l'année, d'une micropopulation dont la densité n'est pas négligeable (10^4 à 10^5 unités/g sol) (BOYD et BOYD, 1964) ;

b) stade de développement des micro-organismes. — Le taux de létalité est sensiblement accru lorsque le gel porte sur de jeunes cellules dans leur phase de croissance active : tel peut être le cas des micro-organismes que l'on vient de faire proliférer dans le sol par une préincubation de sept jours à 30 °C ;

c) composition du sol. — Bien qu'aucune étude systématique n'ait porté sur la résistance au gel des micro-organismes en fonction de la teneur du sol en colloïdes minéraux ou organiques, il est vraisemblable que ces substances jouent un rôle important dans la protection des divers micro-organismes, notamment de ceux qui sont à l'état *adsorbé* ;

d) isolement des micro-organismes. — Les micro-organismes groupés en colonies ou en zooglées exercent vis-à-vis d'eux-mêmes une autoprotection, alors que les micro-organismes isolés sont plus exposés ;

e) modalités de gel et de dégel. — L'effet létal dépend des conditions d'exposition au gel (qui peuvent varier notamment en ce qui concerne la rapidité et la température) et des conditions de dégel (INGRAHAM, 1962).

b) Effets secondaires du gel. — Ces effets rappellent les effets secondaires de la dessiccation ; ils en diffèrent seulement par l'intensité qui est, en général, nettement

atténuée. Le dégel est suivi d'une reprise d'activité souvent marquée par une *stimulation*, qui porte essentiellement sur les processus de minéralisation du carbone, de l'azote et de dénitrification et dont l'intensité dépend pour une bonne part du type pédologique considéré (SCHAEFER, 1964a).

1° Stimulation de la minéralisation du carbone organique mesurée par respirométrie. — On observe toujours, après le gel, une stimulation plus ou moins prononcée de l'absorption d'O₂ ou du dégagement de CO₂ par le sol (MACK, 1963 ; SOULIDES et ALLISON, 1961). Cette stimulation peut être attribuée à une prolifération de la microflore tellurique due essentiellement à l'accroissement, déjà évoqué antérieurement, de la teneur du sol en substrats facilement métabolisables.

2° Stimulation de la minéralisation de l'azote organique du sol et de la nitrification. — Le gel stimule souvent la minéralisation de l'azote (MACK, 1963) et la nitrification (SEIFERT, 1963a), mais il exerce parfois un effet dépressif (SOULIDES et ALLISON, 1961).

3° Dénitrification. — Comme la dessiccation, le gel préalable du sol stimule nettement la dénitrification. L'intensité de cette stimulation est d'autant plus grande que le gel a été réalisé à une température plus basse (tableau LXV).

TABLEAU LXV. — INFLUENCE DE DIVERS PRÉTRAITEMENTS DU SOL SUR LA DÉNITRIFICATION DÉTERMINÉE À 30 °C (McGARITY, 1962)

PRÉTRAITEMENT	µl N ₂ /g sol		
	36 h	72 h	106 h
Témoin	38	73	111
Gel -30 °C à -78 °C	104	150	160
Gel -5 °C à 0 °C	67	137	151
Gel 0 °C à 2 °C	65	122	143
Incubation 30 °C à 31 °C	30	56	85
Séchage 15 °C à 19 °C	45	96	128

N. B. — La dénitrification est exprimée en µl N₂ dégagé au bout de 36, 72 et 106 h par 1 g de sol enrichi en azote nitrique à la dose de 177 ppm. L'azote dégagé est mesuré par manométrie.

4° Thermopériodisme

Les processus de minéralisation et la dénitrification sont souvent accélérés par des alternances de température : les plus connues sont les alternances de gel et de dégel ; mais les oscillations de température au-dessus de 0 °C semblent aussi jouer un rôle.

a) *Alternances de gel et dégel.* — Ces alternances activent fortement la minéralisation du carbone du sol, mesurée par le dégagement de CO₂, la minéralisation de l'azote organique et la dénitrification.

b) *Alternances autour d'une température supérieure à 0 °C.* — FREDERICK (1956) a remarqué que, lorsque la température d'incubation oscille entre 2 et 15,5 °C (la moyenne étant de 7 °C) la nitrification est plus intense que lorsque la température reste fixée à 7 °C. Une stimulation de même type mais portant sur la dénitrification a été obtenue par SCHAEFER (1964a) avec une alternance de 3 à 28 °C.

L'effet stimulant du thermopériodisme rappelle par son origine et sa complexité celui des alternances de dessiccation et d'humectation du sol ; il s'expliquerait partiellement par une accélération des processus de libération de la matière organique métabolisable incluse dans les agrégats et par une accélération de la vitesse de renouvellement des populations microbiennes.

III. — INTERACTIONS ENTRE LA TEMPÉRATURE ET DIVERS FACTEURS ÉCOLOGIQUES

L'étude comparative de l'influence de la température sur l'activité biologique des sols appartenant à différents types pédologiques — telle que celles de SAKAI (1959), d'ANDERSON et BOSWELL (1964) ou de MOUREAUX (1967) — révèle l'existence entre ces sols de différences considérables que l'on peut expliquer partiellement par l'existence d'interactions entre le facteur température lui-même et divers facteurs physiques, chimiques et biologiques.

1° Interactions avec des facteurs physiques et chimiques

Nous en donnerons trois exemples qui concernent les facteurs pH, humidité et texture.

Les optimums thermiques de croissance de certaines souches d'*Azotobacter chroococcum* varient suivant le pH : sur milieu d'ASHBY à pH 8,9, l'optimum est de 31-32 °C, alors que sur milieu à pH 6,0, l'optimum tombe à 23-24 °C (RUBENCHIK, 1960, p. 29).

Dans un sol étudié par TAMM et KRZYSCH (1963), l'humidité optimale de dégagement de CO₂ du sol passe de 40 % de la capacité de rétention à 5 °C, à 60 % à 35 °C. L'effet de la température sur la nitrification peut dépendre de la texture du sol considéré. Ainsi dans des sols relativement sableux (sols sablo-limoneux de la série de Norfolk, Etats-Unis) une température de 5 °C inhibe totalement la nitrification, alors que dans des sols plus argileux (sols limono-argileux de la série de Hiwassee), la nitrification à cette température est simplement ralentie (ANDERSON et BOSWELL, 1964). Les interactions température × teneur en oxygène des solutions du sol ont été évoquées antérieurement (p. 435).

2° Interactions avec des facteurs de nature biologique

Ces interactions ont été étudiées à diverses reprises dans le cas de la nitrification (FREDERICK, 1957 ; SABEY et coll., 1959 ; SAKAI, 1959). Il résulte de ces différents travaux que la densité des micro-organismes nitrificateurs dans le sol joue un rôle important au-dessous de 10 °C. En effet à ces faibles températures, la nitrification est encore intense si les micropopulations nitrifiantes sont denses (tableau LXVI, sol alluvial) ; mais elle est beaucoup plus faible dans les sols où la densité des nitrificateurs est peu élevée (tableau LXVI, sols sableux de bordure de rivière). Rappelons que, dans la rhizosphère, l'effet de la température s'exerce en partie par l'intermédiaire des plantes (cf. p. 580).

TABLEAU LXVI. — INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE SUR LA NITRIFICATION
DANS TROIS SOLS PRÉSENTANT À L'ORIGINE DES DENSITÉS VARIABLES
DE BACTÉRIES NITRIFIANTES
(SAKAI, 1959)

TEMPÉRATURE D'INCUBATION	TYPE DE SOL			
	SOL ALLUVIAL RICHE EN BACTÉRIES NITRIFIANTES (3 500 unités/g)		SOL SABLEUX DE BORD DE RIVIÈRE TRÈS PAUVRE EN BACTÉRIES NITRIFIANTES (5 unités/g)	
	<i>N</i> nitrique en ppm	%	<i>N</i> nitrique en ppm	%
5 °C	40	42,3	8	11,2
15 °C	65	68,6	47	66,3
25 °C	94	100,0	71	100,0
35 °C	63	67,0	43	59,7

N. B. — Dans la colonne %, on a porté la valeur de la nitrification relative en prenant pour base la nitrification à 25 °C.

CHAPITRE VI

LE FACTEUR LUMIÈRE

L'effet de la lumière sur les micro-organismes s'exerce *directement* sur ceux qui se trouvent à la surface du sol ; elle s'exerce *indirectement* par l'intermédiaire des plantes sur les micro-organismes qui vivent dans la masse du sol.

On n'étudiera pas ici l'effet indirect de la lumière qui sera abordé à l'occasion de l'étude de l'influence de l'éclairement sur les micropopulations rhizosphériques (p. 581). Il ne sera pas question non plus de l'action bactéricide du soleil sur les micro-organismes non photosynthétiques situés à la surface du sol, action qui est très généralement admise mais n'a pas fait l'objet de recherches systématiques. On évoquera seulement ici l'effet de la lumière sur les Cyanophycées et Bactéries photosynthétiques dont les principales caractéristiques sont rappelées dans le tableau LXVII.

1° Cyanophycées

Organismes photosynthétiques, ces Algues ont besoin de lumière et de CO_2 pour se développer normalement. Leurs exigences en CO_2 sont satisfaites sans difficulté. Quant à la lumière, elle régit leur distribution verticale : la vie algale est pratiquement limitée à la surface du sol dans la fine couche de 10 à 15 mm d'épaisseur où les rayons lumineux peuvent encore pénétrer (TCHAN et WHITEHOUSE, 1953).

Chez les Cyanophycées fixatrices d'azote, la lumière n'est pas seulement indispensable à la photosynthèse ; elle est aussi nécessaire à la fixation. Pour ces micro-organismes, le facteur lumière est primordial : ainsi chez *Chlorogloea fritschii*, la fixation d'azote apparaît comme beaucoup plus sensible à la lumière qu'à la température (FAY et FOGG, 1962).

Dans certains sols, notamment les sols hydromorphes, la lumière s'avère très favorable à la fixation d'azote par les Cyanophycées. Une expérience de BJÄLFVE (1962) effectuée sur sable (tableau LXVIII) met bien en évidence l'effet stimulant de la lumière, même dans les milieux non enrichis en substrat énergétique, où la teneur en azote passe de 13 à 144 ppm ; parallèlement à cet enrichissement en azote, on observe un enrichissement en carbone organique dont la teneur passe de 0,027 à 0,186 %. Cette expérience montre en outre qu'en milieu stérile, même en présence de lumière, il n'y a pas fixation d'azote, contrairement à la théorie de DHAR (1953).

TABLEAU LXVII. — PRINCIPALES CARACTÉRISTIQUES DES PROTISTES INFÉRIEURS PHOTOSYNTHÉTIQUES
(d'après STANIER et coll., 1966 et STEWART, 1966)

	CYANOPHYCÉES (Algues bleu-vert)	CHLOROBACTÉRIACÉES (Bactéries sulfureuses vertes)	Bactéries pourpres	
			THIORHODACÉES (Bactéries sulfureuses pourpres)	ATHIORHODACÉES (Bactéries non sulfureuses pourpres)
Habitat	Ne renfermant pas de sulfures; les composés organiques sont inu- tiles	Renfermant des sulfures	Renfermant des sulfures	Renfermant des composés organiques
Besoins en oxygène	Aérobies	Anaérobies	Anaérobies	Anaérobies et parfois aérobies facultatifs
Photosynthèse avec production d'oxygène	+	—	—	—
Type de chlorophylle	Chlorophylle <i>a</i>	Chlorophylle <i>Chloro- bium</i>	Bactério-chlorophylle	
Présence de phycobiline	+	—	—	—
Fixation d'azote moléculaire	Démontrée chez de nombreuses espèces	Démontrée chez certains <i>Chlorobium</i>	Démontrée chez certains <i>Chromatium</i>	Démontrée chez cer- tains <i>Rhodospirillum</i> <i>Rhodopseudomonas</i> <i>Rhodomicrobium</i>
Sulfo-oxydation	—	+	+	—

TABLEAU LXVIII. — FIXATION D'AZOTE EN SABLE STÉRILE ET NON STÉRILE
AVEC (E) OU SANS ÉCLAIRAGE (NE)
(BJÄLFVE, 1962)

APPORT DE SUBSTANCE CARBONÉE ORGANIQUE	A L'ORIGINE	APRÈS 6 MOIS				APRÈS 12 MOIS			
		STÉRILE		NON STÉRILE		STÉRILE		NON STÉRILE	
		NE	E	NE	E	NE	E	NE	E
Aucun	13	8	9	8	23	10	9	10	144
1 g de paille sèche	50	53	54	54	120	53	54	62	226
1 g d'amidon sec	13	12	12	103	253	13	17	110	211

N. B. — Les résultats sont exprimés en ppm N.

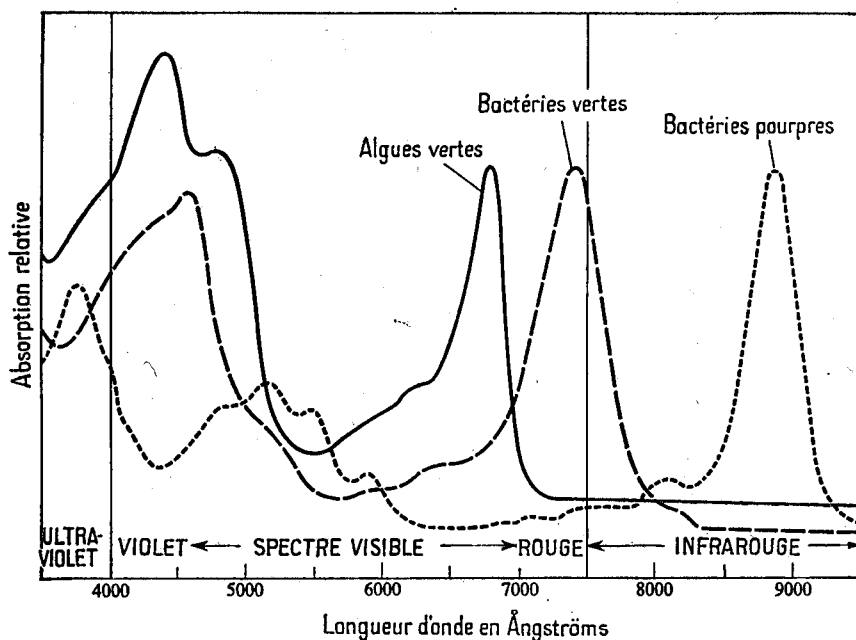


FIG. 108. — Spectres d'absorption de la lumière par une Algue verte, une Bactérie verte, et une Bactérie pourpre. L'absorption de la lumière par ces trois types d'organismes photosynthétiques est complémentaire dans les régions rouge et infra-rouge du spectre (STANIER et coll., 1966).

2° Bactéries photosynthétiques

On sait que les Bactéries photosynthétiques peuvent jouer un certain rôle dans les sols hydromorphes en intervenant dans l'enrichissement du sol en azote (cf. p. 175) ou en oxydant les formes réduites du soufre (cf. p. 245). Comme elles sont dotées de systèmes pigmentaires particuliers différents de celui des Algues (tableau LXVII), elles n'utilisent pas les mêmes longueurs d'onde (fig. 108), ce qui leur permet de coexister comme suit avec ces derniers organismes dans les habitats aquatiques : les Algues se développent en surface, en laissant passer les longueurs d'ondes les plus favorables aux Bactéries photosynthétiques, qui occupent les parties relativement profondes de ces habitats en raison de leur caractère anaérobie strict.

CHAPITRE VII

LE FACTEUR TEXTURE : ROLE DES ARGILES

On a l'habitude de classer les particules minérales du sol suivant leur taille en quatre fractions, dont les diamètres moyens exprimés en mm sont compris entre les valeurs suivantes (système international) :

Sables grossiers	2,000-0,200
Sables fins	0,200-0,020
Limon	0,020-0,002
Argile (au sens granulométrique)	< 0,002

Sur le plan biologique, c'est la fraction argileuse qui joue le rôle essentiel en raison de sa surface spécifique élevée et c'est sur son rôle que nous insisterons particulièrement, sans perdre toutefois de vue celui des autres fractions qui sera examiné rapidement page 475.

A. — RAPPEL CONCERNANT LES ARGILES ET LEURS PROPRIÉTÉS

1° Eléments constitutifs de la fraction argileuse

a) *Phyllosilicates ou argiles minéralogiques.* — Les phyllosilicates sont formés de feuillets se ramenant à deux types :

— les feuillets constitués d'une couche de tétraèdres de silice et d'une couche d'octaèdres d'aluminium (feuillets dits *te-oc* ou 1 : 1), exemple : kaolinite ;

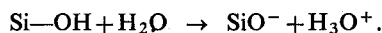
— les feuillets constitués d'une couche d'octaèdres d'aluminium enserrée entre deux couches de tétraèdres de silice (feuillets dits *te-oc-te* ou 2 : 1), exemple : illite, montmorillonite.

Certaines argiles fibreuses ont une structure en feuillets allongés en forme de rubans étroits, exemple : attapulgite (palygorskite).

Les phyllosilicates présentent une charge électrique négative, qui a une double origine :

a) substitution isomorphe entre des ions de valence différente dans les couches tétraédriques ou octaédriques ;

b) ionisation des groupes hydroxyles de la silice des couches tétraédriques aux extrémités libres des feuillets :



La nature amphotère des argiles implique la présence simultanée de charges positives et négatives ; mais, en général, la charge négative de ces particules dépasse leur charge positive de sorte que la charge *nette* est négative. Cette charge superficielle entraîne l'existence d'un champ électrique où le potentiel diminue avec la distance à laquelle on se trouve de la particule d'argile. Comme il s'agit d'un potentiel négatif, les cations sont attirés et les anions repoussés. L'épaisseur de la couche intéressée par ce champ (couche diffuse de Gouy-Chapman) est de l'ordre de 100 à 200 Å. Or, dans un sol renfermant 20 % d'illite environ et se trouvant à une humidité de 20 % en poids, on peut calculer que le film d'eau correspondant à cette humidité recouvre les particules élémentaires sur une épaisseur comprise entre 25 et 250 Å. Il en résulte que, pour une grande part, « l'eau du sol se trouve placée dans le champ électrique des phyllosilicates et qu'en conséquence la phase liquide du sol ne constitue pas un liquide isotrope dans les trois dimensions, mais un film très mince dans lequel les ions sont soumis à des forces superficielles provenant des microparticules du sol » (CHAUSSIDON, 1963). On peut donc s'attendre, *a priori*, à ce que l'activité microbiologique dans le sol, c'est-à-dire en présence d'argile, soit profondément différente de celle qui pourrait se manifester en l'absence d'argile.

Les cations qui sont distribués au voisinage des particules d'argile sont dits *échangeables* car ils peuvent être facilement remplacés par d'autres cations ; certains cations (NH_4^+ et K^+) peuvent, en outre, être liés à l'argile irréversiblement ou presque pour des raisons minéralogiques : ils sont dits *fixés*.

Les *kaolinites*, n'offrant pas de substitution isomorphe d'ions, ne présentent de charges qu'aux extrémités libres des feuillets ; leur capacité d'échange est très faible.

Les *montmorillonites* présentent, au contraire, des charges négatives sur toute la surface de leurs feuillets et les possibilités d'échange d'ions sont considérables.

Les *illites* occupent une position intermédiaire, avec une capacité d'échange moyenne.

b) **Minéraux accessoires.** — On désigne par minéraux accessoires l'ensemble des substances minérales (cristallisées ou amorphes) autres que les phyllosilicates qui entrent dans la fraction granulométrique argileuse. Peu importants dans les sols des régions tempérées, certains minéraux accessoires sont, par contre, bien représentés dans les sols tropicaux : ce sont les oxydes ou hydroxydes de fer et d'aluminium et les allophanes.

1° **Oxydes et hydroxydes (sesquioxides).** — Les plus répandus sont les oxydes d'aluminium (par ex. : gibbsite) ou les oxydes de fer (par ex. : goethite ; hématite) ; les oxydes de titane doivent être rangés dans cette catégorie (par ex. : illménite).

2° **Allophanes.** — Par allophane, on désigne des gels amorphes d'alumino-silicates de composition variable mais renfermant toujours Al_2O_3 , SiO_2 , H_2O . L'allophane est abondante dans les sols formés à partir de cendres volcaniques et son association avec la matière organique donne des sols d'une teinte noire, appelés habituellement andosols (*ando* signifie noir en japonais).

Contrairement aux phyllosilicates, les oxydes et hydroxydes et les allophanes sont en général chargés positivement.

2° Propriétés adsorbantes des argiles

A l'occasion du rappel succinct que nous venons de consacrer aux phyllosilicates, nous avons évoqué la propriété qu'ont les particules argileuses d'attirer à leur surface les cations minéraux ou de repousser les anions minéraux : dans le premier cas, on dit qu'il y a *adsorption positive* (ou plus simplement *adsorption*) ; dans le deuxième cas, on dit qu'il y a *adsorption négative*. A côté de l'adsorption d'ions minéraux, il peut y avoir *adsorption d'ions ou de molécules organiques* (GREENLAND, 1965 ; McLAREN et PETERSON, 1967). L'adsorption fait intervenir soit des forces de Van der Waals (adsorption physique), soit des forces ioniques (adsorption chimique). L'adsorption et la désorption des ions et molécules organiques sont très sensibles à l'influence de facteurs divers qu'il ne nous appartient pas d'analyser ici, mais qu'il est utile de signaler ; en dehors de la nature et de la concentration relative de la substance adsorbante (argile) et de la substance adsorbée, ces facteurs sont : le pH du sol (en ce qui concerne les protéines, l'adsorption est maximale au voisinage du point isoélectrique), la nature des cations adsorbés, l'humidité et la température du sol. Sur le plan biologique, le fait que les argiles soient douées de propriétés adsorbantes présente une importance considérable car ce sont précisément ces propriétés qui sont — directement ou indirectement — à l'origine de certaines particularités de l'activité biologique dans le sol.

B. — CONSÉQUENCES DE L'ADSORPTION DES COMPOSÉS ORGANIQUES

On sait que de nombreux composés organiques peuvent être adsorbés par les argiles, soit sous forme de cations organiques (amines, acides aminés, par exemple), soit, s'il s'agit d'anions organiques ou de composés non chargés, suivant divers mécanismes encore mal élucidés.

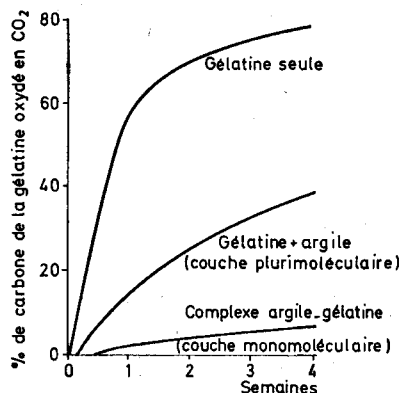
a) **Substrats et produits intermédiaires du métabolisme microbien.** —

L'adsorption des substrats a, en général, un effet protecteur (stabilisateur) vis-à-vis de la dégradation enzymatique ou microbienne mais, dans certaines conditions, on observe au contraire, une stimulation.

1° **Effet protecteur de l'adsorption ; complexes organo-minéraux du sol.** — L'effet protecteur de l'argile vis-à-vis de la biodégradation a été démontré à maintes reprises *in vitro*. Pour qu'il se manifeste, il est nécessaire qu'il y ait effectivement *adsorption de la substance biodégradable* sur les particules argileuses. L'effet protecteur est très variable :

a) il est d'autant plus marqué que le nombre de couches moléculaires adsorbées est faible : la gélatine en couche monomoléculaire résiste beaucoup mieux à la biodégradation que lorsqu'elle est à l'état plurimoléculaire (fig. 109) ;

FIG. 109. — Influence protectrice de l'argile sur la dégradation de la gélatine (PINK et coll., 1954).



b) certaines argiles ont un effet stabilisateur considérable (attapulгите, montmorillonite) alors que d'autres s'avèrent peu efficaces (PINCK et coll., 1954) ;

c) si le substrat est adsorbé par une argile à l'état pâteux, il est beaucoup mieux protégé que s'il se trouve adsorbé sur une argile en suspension relativement diluée (ESTERMANN et coll., 1959).

La protection des substrats vis-à-vis de la biodégradation microbienne ou enzymatique s'expliquerait non seulement par l'effet d'adsorption proprement dit, mais aussi parfois par l'inclusion du substrat dans des positions difficilement accessibles par les micro-organismes. L'examen aux rayons X des complexes artificiels protéine-argile a en effet prouvé que l'adsorption des cations organiques sur des argiles gonflantes avait lieu non seulement sur les surfaces externes, mais aussi sur les surfaces internes de ces minéraux. Bien entendu, les substrats métabolisables qui se trouvent entre les feuillets du réseau cristallin ne sont plus protégés contre l'attaque enzymatique si des enzymes peuvent aussi pénétrer entre ces feuillets.

Au champ, la minéralisation de l'azote est nettement freinée par l'argile : ainsi une étude effectuée en Afrique du Sud par SAUNDER et GRANT (1962) montre que le taux de minéralisation de l'azote pendant une saison de végétation varie comme suit dans trois types de sol de granulométrie variable :

- 4 à 5 % dans les sols sableux ;
- 3 à 4 % dans les sols limono-sableux ;
- 2 à 3 % dans les sols argileux et limono-argileux.

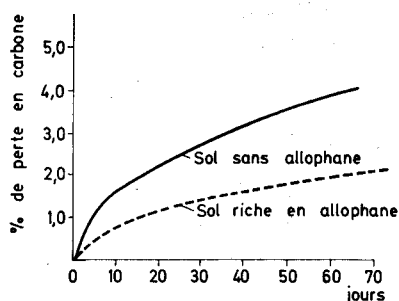


FIG. 110.

FIG. 110. Minéralisation de la matière organique humifiée dans un sol sans allophane (—) et dans un sol riche en allophane (---) (BROADBENT et coll., 1964).

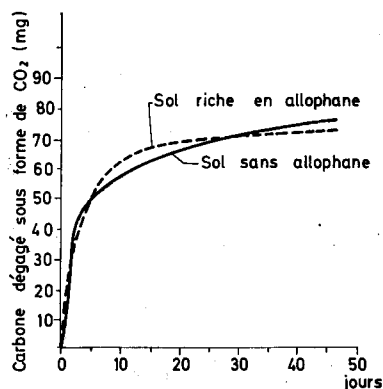


FIG. 111.

FIG. 111. — Minéralisation de la matière organique fraîche incorporée à un sol sans allophane (—) et à un sol riche en allophane (---) (BROADBENT et coll., 1964).

C'est à cette action stabilisatrice que l'on peut attribuer une meilleure *conservation de la matière organique* dans les sols plus argileux en région tropicale (COMBEAU et coll., 1961).

La stabilisation de la matière organique ne concerne pas la matière organique fraîche mais la matière organique déjà décomposée ou même humifiée. L'étude de BROADBENT et ses collaborateurs (1964) sur les sols à allophane néo-zélandais est très instructive à cet égard. Ces auteurs ont, en effet, constaté que, si la matière organique humifiée de ces sols est très stable (fig. 110), la matière organique fraîche qu'on peut y incorporer n'est nullement protégée par l'allophane (fig. 111). On peut donc penser que la matière organique humifiée se trouve sous forme de complexes organo-minéraux qui sont très résistants, alors que la matière organique fraîche incorporée au sol comporterait trop peu de groupements susceptibles de réagir sur les ions métalliques des argiles pour former des complexes stables. Lorsque la décomposition progresse, le nombre de ces groupements augmente : ils se combinent

alors avec l'aluminium de l'allophane de sorte que la surface des molécules de matière organique ne comporterait plus de sites convenables pour l'attaque enzymatique.

Les expériences de SØRENSEN (1965) viennent à l'appui de cette thèse. En effet, son étude respirométrique de la dégradation de la cellulose (et du glucose) révèle que, si l'argile utilisée (montmorillonite) n'exerce aucune action modératrice sur le dégagement de CO_2 dans la première phase de la dégradation (phase exponentielle ou d'oxydation primaire), elle ralentit considérablement ce dégagement dans la deuxième phase (phase d'oxydation résiduelle), qui correspondrait à la dégradation des produits secondaires du métabolisme (DROBNIKOVA et DROBNIK, 1965). Il est donc fort probable que c'est l'adsorption sur la montmorillonite de ces produits intermédiaires qui est à l'origine du ralentissement marqué de l'activité biologique observé dans la deuxième phase (fig. 112).

C'est aussi à des processus d'adsorption sur la montmorillonite que VISSER (1964a) attribue le ralentissement de la décomposition des hémicelluloses, celluloses et protéines de résidus végétaux (*Papyrus*) mis à décomposer en présence de ce type d'argile, alors qu'en présence de kaolin, la décomposition de ces résidus est nettement plus rapide. Des résultats comparables ont été obtenus par KOBUS et PACEWICZOWA (1966) avec d'autres résidus (Lupin).

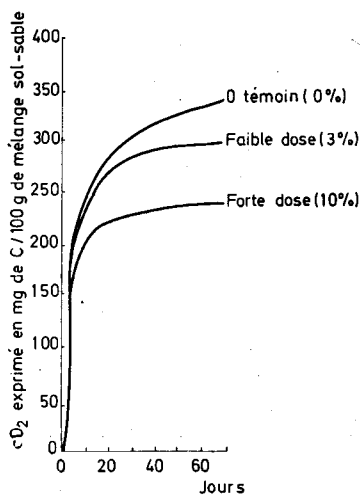


FIG. 112.

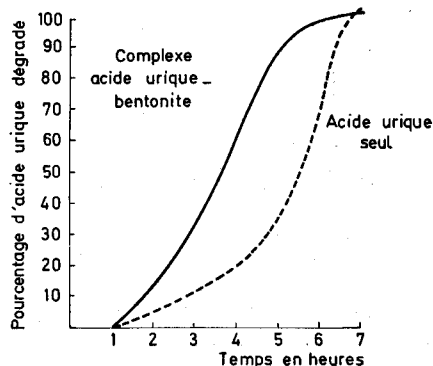


FIG. 113.

FIG. 112. — Courbes cumulatives de production de CO_2 dans un mélange sol-sable enrichi en glucose renfermant 0,3 et 10 % de montmorillonite (SØRENSEN, 1965).

FIG. 113. — Dégradation bactérienne de l'acide urique non adsorbé (acide urique seul) et de l'acide urique adsorbé sur bentonite (complexe acide urique-bentonite) (DURAND, 1964).

2° **Effet stimulant de l'adsorption des substrats.** — Bien que moins fréquent que l'effet protecteur, l'effet stimulant de l'adsorption a été mis en évidence par divers chercheurs. Nous en donnerons deux exemples :

PREMIER EXEMPLE : hydrolyse du lysozyme ⁽¹⁾ inactivé. — L'hydrolyse de cette protéine par les protéinases extra-cellulaires d'un *Flavobacterium* et d'un *Pseudomonas* est plus rapide lorsque ce substrat se trouve adsorbé en couche monomoléculaire sur une argile que lorsqu'il se trouve en solution exempte d'argile. Cette stimulation de la dégradation de la protéine a lieu, que les micro-organismes utilisés soient eux-mêmes adsorbés ou non (ESTERMANN et McLAREN, 1959).

DEUXIÈME EXEMPLE : dégradation de l'acide urique. — La dégradation par un *Pseudomonas* de l'acide urique en solution est plus lente que la dégradation de l'acide urique complexé avec une montmorillonite (fig. 113). On attribue l'origine de cet effet stimulant à une concentration du substrat sur les argiles.

Pour expliquer l'effet variable de l'adsorption, qui est généralement modérateur mais peut aussi être stimulant, comme on vient de le voir, DURAND (1964) suppose que la nature des liaisons entre la matière organique et l'argile est différente dans les deux cas. Il s'agit là d'une hypothèse séduisante, mais qu'il sera nécessaire de vérifier.

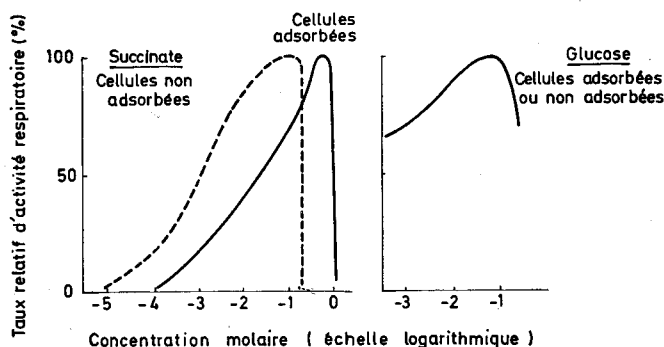


FIG. 114. — Comparaison de l'oxydation du glucose et du succinate par des cellules de *Micrococcus luteus* adsorbées ou non sur une résine anionique (Dowex 1). Dans le cas du succinate, la concentration optimale est plus élevée pour les cellules adsorbées que pour les cellules libres, car la résine anionique repousse les ions succiniques, dont la concentration est abaissée au niveau de la résine. Par contre, dans le cas du glucose, substance non ionisée, il n'y a aucune différence de comportement entre cellules adsorbées et non adsorbées (HATTORI et HATTORI, 1963).

(1) Le lysozyme est une hydrolase qui provoque la lyse des Bactéries en dépolymérisant les polysaccharides de la membrane cellulaire.

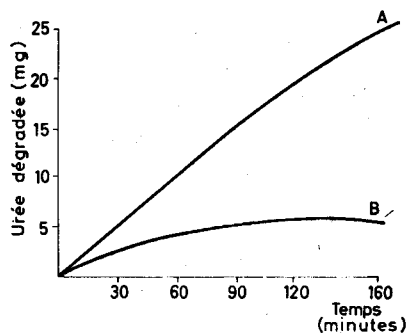
3° **Répulsion des substrats chargés négativement.** — Les particules argileuses exercent, vis-à-vis d'anions organiques, une action répulsive (adsorption négative) qui se traduit par une dilution du substrat chargé négativement au voisinage de ces particules. Si les Bactéries adhèrent à l'argile, leur face de contact trouve ainsi un milieu appauvri en substrat et l'activité biologique globale mesurée diminue. HATTORI et HATTORI (1963) ont pu vérifier expérimentalement ce fait avec un substrat-succinate alors qu'un substrat-glucose qui n'est pas ionisé est insensible à l'action répulsive d'une résine anionique, dont le comportement est comparable à celui d'une argile (fig. 114). En effet, la résine anionique est recouverte d'une couche d'anions qui attire préférentiellement les ions H^+ , de sorte que la concentration en ions H^+ à proximité des particules de résine est plus élevée que dans l'ensemble du liquide où baignent ces particules.

On a attribué à un effet répulsif du substrat NO_2^- le ralentissement de la nitrata-tion parfois observé en présence d'argile (cf. p. 471).

b) **Enzymes.** — 1° **Mise en évidence expérimentale de l'adsorption des enzymes par les argiles.** — Elle ne présente aucune difficulté pratique particulière ; il suffit : 1° de mettre en contact pendant des temps variables et en présence de solutions tampons convenables l'enzyme et l'argile à étudier ; 2° de centrifuger ; 3° de doser l'enzyme dans le surnageant, soit par une méthode chimique directe (par exemple, mesure de la densité optique dans l'ultraviolet), soit par une évaluation de son activité. Des méthodes fondées sur ce principe ont permis de démontrer la fixation du lysozyme (MCLAREN, 1954, a et b ; MCLAREN et coll., 1957), de la saccharase de Levure (HOFMANN et SEEGERER, 1951), de l'uricase (DURAND, 1965). Dans les conditions optimales, une fraction importante de l'enzyme est fixée pendant les premières minutes de contact ; mais il est des cas où la fixation peut être plus lente.

Le maximum d'adsorption serait d'après MCLAREN et ses collaborateurs (1954b) situé au voisinage du point isoélectrique de la protéine : pH 3 pour la pepsine, pH 10 pour le lysozyme. Mais DURAND (1965) estime que ce maximum est un artefact dû en particulier au fait qu'au point isoélectrique, une précipitation des protéines se superpose au phénomène de fixation proprement dit. En dehors du pH, d'autres facteurs interviennent pour modifier l'intensité de l'adsorption : concentration relative de l'argile, de l'enzyme et du ou des substrats éventuellement présents (DURAND, 1965), adjonction de sol (KISS, 1958).

FIG. 115. — *Activité uréasique de l'enzyme en solution (courbe A) et du complexe bentonite-uréase (courbe B). La concentration en substrat et le pH sont identiques dans les deux cas (DURAND, 1966).*



2° **Conséquences de l'adsorption des enzymes sur les argiles.** — Elles sont de deux sortes :

a) *En premier lieu*, l'adsorption entraîne en général une réduction partielle de l'activité enzymatique. Ainsi, l'urée est dégradée plus lentement par de l'uréase adsorbée sur une bentonite, que par de l'uréase en solution (fig. 115). L'inhibition de l'activité enzymatique a été attribuée à la rigidité avec laquelle les enzymes sont retenues à la surface des argiles (ZITTLE, 1953). Même dans le cas où l'adsorption entraîne une inhibition totale de l'enzyme, cette inhibition peut disparaître si l'enzyme est désorbée à la suite de modifications des caractéristiques de l'environnement telles qu'une élévation locale du pH.

b) *En second lieu*, l'adsorption protège les enzymes contre la dégradation par les micro-organismes ou la destruction par d'autres enzymes. Cet effet de protection a déjà été évoqué page 85. C'est en partie par l'influence protectrice des argiles contre les agents de biodégradation que l'on pourrait expliquer l'accumulation de saccharase, d'autant plus importante que les sols sont plus argileux, observée par KISS (1958) après un enrichissement avec du saccharose (1 %) suivi d'une incubation de trois semaines (tableau LXIX).

TABLEAU LXIX. — INFLUENCE PROTECTRICE DE DEUX ARGILES SUR LA SACCHARASE (d'après KISS, 1958)

TRAITEMENT	ACTIVITÉ SACCHARASIQUE ^(a)	
	<i>Sol humidifié non enrichi en saccharose</i>	<i>Sol humidifié enrichi en saccharose (1%)</i>
Aucun (témoin)	1,10	1,48
+Kaolinite 2 %	1,12	1,58
+Kaolinite 10 %	1,06	1,87
+Kaolinite 20 %	1,12	2,59
+Bentonite 2 %	1,11	1,51
+Bentonite 5 %	1,10	1,65
+Bentonite 10 %	1,15	2,04

(a) L'activité saccharasique du sol est exprimée ici par le pouvoir rotatoire ($\Delta\alpha^\circ$)

3° **Interaction de processus parasites.** — L'interprétation des expériences sur l'influence des argiles est sérieusement compliquée par l'interaction de processus parasites, dont les plus gênants sont l'adsorption par les argiles de certains substrats, l'adsorption d'activateurs ou d'inhibiteurs ou les modifications du pH à l'échelle du microhabitat.

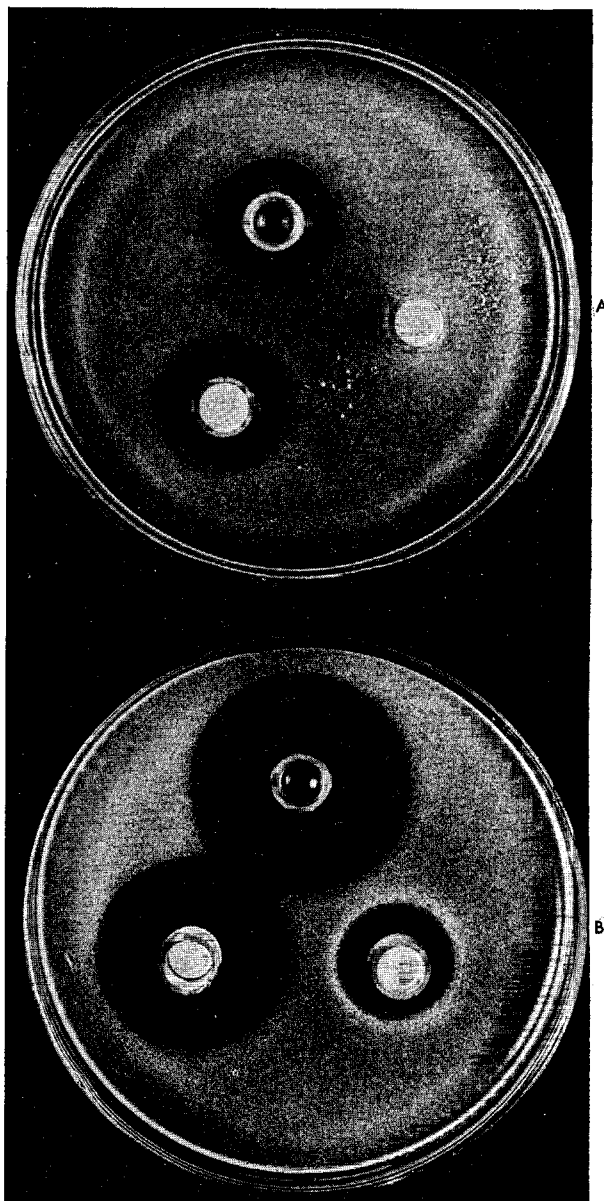
a) Si le substrat considéré est adsorbé par l'argile, l'inhibition de l'attaque enzymatique peut aussi bien résulter de l'adsorption du substrat que de l'adsorption de l'enzyme.

b) Les argiles peuvent exercer sur l'activité enzymatique un autre type d'effet indirect résultant de l'adsorption de certains activateurs ou inhibiteurs enzymatiques présents dans le milieu. Ainsi la bentonite protège l'uréase contre l'effet inhibiteur des

FIG. 116. — Désorption des antibiotiques adsorbés sur deux types de minéraux argileux (PINK et coll., 1961). L'antibiotique adsorbé sur l'argile a été placé dans des cylindres de verre posés sur un milieu convenable, inoculé avec une Bactérie test. Après incubation, on observe des zones d'inhibition dont le diamètre est fonction de l'intensité de la désorption.

Boîte de Petri A : désorption d'un antibiotique fortement basique (streptomycine) sous l'effet d'un tampon au phosphate ; témoin (haut), montmorillonite (droite), kaolinite (gauche).

Boîte de Petri B : Désorption d'un antibiotique amphotère (auréomycine) sous l'effet d'un tampon au citrate ; témoin (haut), montmorillonite (droite), kaolinite (gauche).



ions Cu^{++} car elle adsorbe ces ions ; par contre, elle ne protège nullement cette enzyme contre l'effet inhibiteur de l'alloxane car cette substance inhibitrice organique n'est pas adsorbée. « Il est facile d'envisager, de même, l'influence de stimulateurs d'enzymes en

présence de bentonite : si l'activateur se fixe sur l'argile, son pouvoir sera diminué ; mais il gardera toute son activité s'il n'est pas adsorbé » (DURAND, 1966).

c) Les argiles peuvent enfin intervenir en déplaçant le pH optimal mesuré de l'activité des enzymes adsorbées (cf. p. 471).

c) **Antibiotiques.** — PINCK et ses collaborateurs (1961 *a* et *b*) ont étudié *in vitro* l'adsorption des antibiotiques sur les argiles. Ces substances peuvent être classées en trois groupes :

- a) **les antibiotiques très basiques** (cationiques) : streptomycine, néomycine, kanamycine ;
- b) **les antibiotiques amphotères** : bacitracine, auréomycine, terramycine ;
- c) **les antibiotiques acides ou neutres** (anioniques) : pénicilline, chloramphénicol, cycloheximide.

Les antibiotiques des deux premiers groupes sont adsorbés avec une intensité allant en décroissant dans l'ordre suivant : montmorillonite > vermiculite > illite > kaolinite. Les antibiotiques du troisième groupe ne sont adsorbés que par la montmorillonite et encore cette adsorption est-elle très limitée. L'école russe avec KRASILNIKOV (1958 et 1965), qui se penche depuis longtemps sur ce problème et qui a examiné l'adsorption par les sols eux-mêmes, aboutit à des conclusions assez proches : la streptomycine est, avec la subtiline, très fortement adsorbée alors que la pénicilline l'est faiblement, mais en quantité appréciable.

L'adsorption des antibiotiques par les argiles entraîne leur inactivation. C'est grâce à l'adsorption de la chloromycétine, de la terramycine et de l'auréomycine que *Bacillus subtilis* peut proliférer dans le sol en présence de ces antibiotiques appliqués à des doses beaucoup plus élevées que les doses inhibitrices déterminées en milieu liquide (MARTIN et GOTTLIEB, 1952). Une expérience élégante de SKINNER (1956) met également bien en évidence ce phénomène : *Streptomyces albidoflavus* et *Fusarium culmorum*, micro-organismes qui, inoculés ensemble dans le même milieu liquide, s'inhibent réciproquement par les antibiotiques qu'ils produisent, peuvent au contraire proliférer ensemble lors de l'addition au milieu d'argile, qui inactive les substances antibiotiques produites par les deux micro-organismes.

L'inactivation des antibiotiques due à l'adsorption n'est pas définitive ; les antibiotiques peuvent agir à nouveau après désorption. *In vitro*, cette désorption peut être obtenue avec des tampons appropriés ; elle est plus marquée avec les argiles du type kaolin qu'avec les argiles du type montmorillonite (fig. 116). Dans le sol, les cellules bactériennes et les racines interviendraient activement dans les processus de désorption (KRASILNIKOV, 1965).

d) **Autres produits du métabolisme microbien.** — Il est démontré que de nombreux autres métabolites microbiens tels qu'hormones ou toxines peuvent être adsorbés par les argiles du sol. Mais on connaît encore mal les conséquences de ce processus sur l'activité microbienne et le développement des plantes.

e) **Pesticides.** — La bioactivité des pesticides, dont l'emploi se répand de plus en plus en agriculture moderne (cf. p. 498) est, en général, fortement réduite par adsorption de ces produits sur les argiles ainsi, d'ailleurs, que sur la matière organique humifiée (BAILEY et WHITE, 1964).

C. — CONSÉQUENCES DE L'ADHÉSION DES MICRO-ORGANISMES

De nombreux micro-organismes sont de la même taille ou même plus grands que les particules argileuses qui, par définition, ont moins de $2\ \mu$. On peut donc concevoir, avec LAHAV (1962), la possibilité d'une *adhésion des particules argileuses sur les cellules microbiennes*. Mais, en fait, dans le sol, les argiles sont, en général, à l'état floculé et forment des agrégats plus ou moins gros : il y a *adhésion des cellules microbiennes sur les agrégats argileux*. Ces deux phénomènes sont induits par un ensemble de mécanismes complexes encore très mal connus. C'est pourquoi il apparaît préférable d'employer le terme d'*adhésion* au lieu de celui d'adsorption (ESTERMANN et McLAREN, 1959). En effet, en plus des forces d'adsorption de nature physico-chimique résultant des propriétés de la substance minérale adsorbante (liaisons ioniques, forces de Van der Waals), il faut tenir compte ici des *forces d'adhésion*, qui sont dues à l'activité ou aux propriétés des cellules microbiennes telles que la mouillabilité des parois cellulaires, l'aptitude à produire des substances agrégatives (gommes, mucus) ou à adhérer sur les particules solides (RUBENCHIK, 1960). Il faut aussi tenir compte de la charge des surfaces bactériennes ; on admet qu'elles sont, en général, chargées négativement. Le signe de cette charge pourrait d'ailleurs, dans certains cas tout au moins, expliquer le regroupement des micro-organismes autour de particules chargées positivement (sesquioxides), alors que d'autres sont adsorbées par les particules électronégatives (argiles minéralogiques) (ZVYAGINTSEV, 1962). Les extrémités des feuillets d'argile portant des charges positives, on peut concevoir l'intervention d'une attraction électrostatique entre les parois bactériennes chargées négativement et les bords des feuillets lorsque ces feuillets sont placés de chant par rapport à la surface bactérienne (MARSHALL, 1968).

Il est difficile de mettre en évidence directement par microscopie le phénomène d'adhésion des micro-organismes sur les particules solides, vraisemblablement, en raison de l'apparition de courants de convection dans les gouttes pendantes ou des altérations dues au séchage et à la coloration. Des dispositifs spéciaux ont été conçus pour ces examens très délicats (KALYUZHNY, cité par ESTERMANN et McLAREN, 1959). Les méthodes indirectes ne donnent pas toujours satisfaction. Mais un grand nombre de faits expérimentaux militent en faveur de l'existence de l'adhésion microbienne (voir par exemple des travaux tels que ceux de HATTORI et HATTORI, cités p. 470).

Le taux d'adhésion des micro-organismes dans le sol est parfois considérable : il peut atteindre 90 % de la population (KRASILNIKOV, 1958) ; mais l'adhésion ne présente aucun caractère obligatoire : la présence d'un adsorbant dans une suspension bactérienne n'entraîne pas nécessairement l'adhésion des micro-organismes (TSCHAPEK et GIAMBIAGI, 1956).

a) Facteurs influant sur l'adhésion des micro-organismes. — Le taux d'adhésion est fonction de nombreux facteurs, dont nous étudions ci-dessous les principaux.

1° Nature des micro-organismes. — L'adhésion des micro-organismes dépend de leur activité métabolique et de l'espèce. Les Bactéries gram-négatives sont adsorbées moins facilement que les Bactéries gram-positives, ces derniers micro-organismes étant d'ailleurs souvent peu mobiles. Les cellules bactériennes peuvent elles-mêmes jouer le rôle d'adsorbant vis-à-vis d'enzymes (ESTERMANN et McLAREN, 1959) ou d'ions (ZACHARIAS, 1963) ou de particules très petites (ZVYAGINTSEV, 1962a) ; on conçoit que la nature et l'importance des éléments adsorbés puissent modifier les processus d'adhésion.

2° Nature et granulométrie des argiles. — L'adhésion des micro-organismes dans le sol est d'autant plus intense que le taux d'argile est élevé.

Il est probable que les argiles de type montmorillonitique sont plus efficaces que les argiles de type kaolinique ; mais on ne dispose que de peu de renseignements sur ce point particulier. L'influence de la granulométrie est également mal connue ; certains auteurs estiment qu'il y aurait un diamètre optimal pour lequel l'adhésion serait la plus intense. Par contre, ZVYAGINTSEV (1962a) a observé une adhésion de micro-organismes proportionnellement aussi importante sur les particules de petit diamètre (1 à 2 μ) que sur les particules plus grosses (400 à 500 μ). La nature des cations adsorbés sur l'argile modifie l'adhésion de l'*Azotobacter* ; celle-ci est plus élevée dans des sols saturés en Fe^{+++} et Al^{+++} que dans des sols saturés en Na^+ , Li^+ , NH_4^+ et K^+ (PEELE, cité par ESTERMANN et McLAREN, 1959). Cette influence de la nature des cations adsorbés se retrouve dans le cas des résines échangeuses d'ions (ZVYAGINTSEV, 1962b).

3° pH. — Le pH exerce une influence considérable sur l'adhésion des micro-organismes. Il semble qu'en général, l'acidité soit favorable (KRASILNIKOV, 1958).

b) Influence de l'adhésion sur l'activité microbienne. — On est actuellement encore très mal renseigné sur les conséquences directes de l'adhésion sur l'activité microbienne. Les recherches consacrées à ce thème sont, en effet, rares (ZVYAGINTSEV, 1959 ; LAHAV, 1962 ; HATTORI et HATTORI, 1963) et les résultats obtenus sont contradictoires, l'adhésion, suivant les conditions expérimentales réalisées, induisant une stimulation, une inhibition ou étant sans effet. Il ne faut pas s'étonner de ces divergences, car de nombreux facteurs interfèrent avec l'adhésion.

Les effets indirects de l'adhésion sont un peu mieux connus. Ils découlent essentiellement du contact des parois des cellules microbiennes avec les particules argileuses : ces parois se trouvent donc placées dans un microhabitat particulier caractérisé par :

- un abaissement du pH ;
- une diminution de la vitesse de diffusion des ions ;
- la concentration de substances organiques biologiquement actives.

La concentration élevée d'ions H^+ au niveau des particules argileuses se traduit par une baisse importante du pH (cf. p. 470), qui retentit profondément sur l'activité des micro-organismes. D'autre part, il est vraisemblable que l'absorption des cations nutritifs au voisinage des argiles est ralentie par l'existence des forces d'attraction et la viscosité plus élevée de l'eau à l'interface. Il est enfin nécessaire de tenir le plus grand compte de la présence sur les argiles de substances biologiquement actives, désorbables par les micro-organismes, qui adhèrent à ces particules : toxines, antibiotiques ou gibbérélines.

D. — CONSÉQUENCES DU POUVOIR TAMPON DES ARGILES

Il est bien connu que la plupart des micro-organismes sont particulièrement sensibles aux fluctuations du pH qui apparaissent dans les milieux où ils se développent, que ces fluctuations soient dues à des facteurs extérieurs ou, au contraire, résultent de leur propre activité métabolique. Dans le sol, ces fluctuations sont considérablement atténuées car les argiles, comme les substances humiques, y jouent un rôle de tampon plus ou moins énergétique. On peut donc s'attendre, *a priori*, à ce que les argiles favorisent l'activité biologique dans le sol en maintenant le pH à un niveau assez constant au cours du développement microbien. C'est effectivement ce que confirme l'expérience. Il résulte, en effet, d'essais conduits sur des modèles simplifiés — constitués par des milieux de cultures renfermant des argiles appartenant à différentes espèces minérales — ensemencées avec *Agrobacterium radiobacter* — que la stimulation de l'activité biologique, mesurée par l'absorption d'oxygène, est due, pour une grande part (mais pas entièrement) au fait que les argiles tamponnent le milieu (STOTZKY, 1966). La stimulation est d'autant plus marquée que le pouvoir tampon des argiles est plus important.

E. — CONSÉQUENCES DE L'ABAISSSEMENT DU pH À PROXIMITÉ DES PARTICULES ARGILEUSES

Les particules argileuses — qui, on l'a vu, sont chargées électronégativement — attirent préférentiellement les ions H^+ , de sorte que la concentration de ces ions à leur voisinage est plus élevée que la concentration moyenne dans le sol. On peut penser alors que les micro-organismes adhérant à ces particules argileuses doivent se trouver placés à un pH plus bas que les micro-organismes libres (n'adhérant pas aux particules). Différentes expériences tendent à étayer cette hypothèse.

Nous citons, en premier lieu, les travaux d'HATTORI et de FURUSAKA (1961), qui portent non pas sur des argiles, mais sur des résines échangeuses d'anions, ce qui revient au même (cf. p. 463). Ces chercheurs ont montré qu'en milieu liquide, la courbe d'activité respiratoire des cellules libres d'*Azotobacter agilis* en fonction du pH mesuré présente un optimum situé au voisinage du pH 6,0. Lorsque les cellules de ce micro-organisme adhèrent sur une résine anionique, le pH optimal mesuré est décalé d'une unité vers les pH élevés : il passe de 6,0 à 7,0 (fig. 117). Comme le pH optimal vrai des

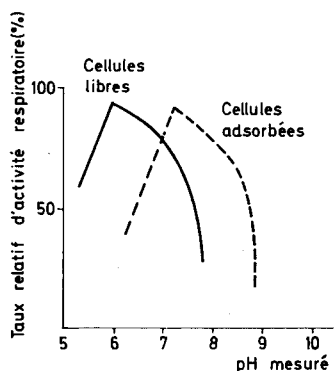


FIG. 117.

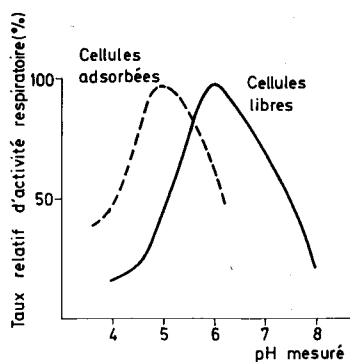
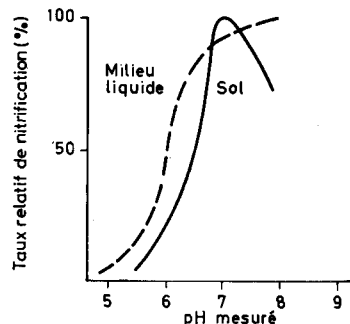


FIG. 118.

FIG. 117. — Décalage du pH optimal mesuré d'activité d'*Azotobacter agilis* lorsque les cellules sont libres (—) ou adsorbées (---) sur une résine anionique (Dowex 1) (HATTORI et FURUSAKA, 1961).

FIG. 118. — Décalage du pH optimal mesuré d'activité de *Ps. fluorescens* lorsque les cellules sont libres (—) ou adsorbées (---) sur une résine cationique (Dowex 50) (HATTORI et HATTORI, 1963).

FIG. 119. — Nitrification comparée en milieu liquide et dans le sol (McLAREN, 1963).



micro-organismes est, bien entendu, toujours sensiblement le même — c'est-à-dire situé aux environs de 6,0 — on doit expliquer le décalage observé par le fait que le pH de la suspension, tel qu'on le détermine (pH mesuré), est le reflet du pH global de cette suspension et non du pH où se trouve placée la membrane des Bactéries.

Lorsque les cellules bactériennes sont adsorbées sur une résine cationique au lieu de l'être par une résine anionique, le pH optimal mesuré est abaissé au lieu d'être élevé (fig. 118).

C'est probablement aussi à la baisse du pH au voisinage des particules électro-négatives du sol que doit être attribuée la réduction du taux de la nitrification dans un milieu liquide perfusé sur un sol par rapport au taux de nitrification dans un milieu liquide sans contact avec un sol (fig. 119). Le ralentissement de la nitrification observé dans cette expérience pourrait résulter en outre de la diminution, au voisinage des micro-organismes adhérant aux particules argileuses, de la concentration des ions NO_2^- repoussés par les surfaces argileuses (adsorption négative). En fait, ce relèvement des pH minimaux ou optimaux mesurés pour la nitrification est rare dans les

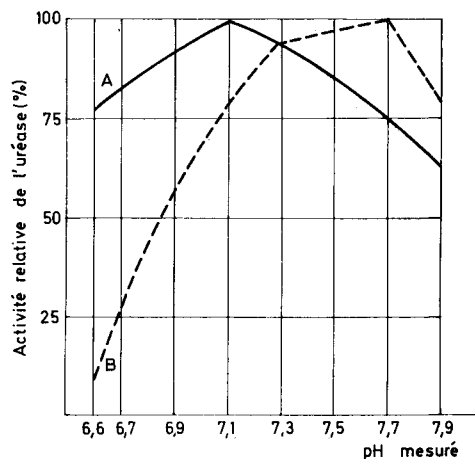


FIG. 120. — Le pH optimal mesuré de l'activité de l'uréase passe de 7,1 en l'absence de bentonite (courbe A : uréase libre) à 7,7 en présence de bentonite (courbe B : uréase adsorbée sur l'argile) (DURAND, 1966).

sols où, au contraire, on observe souvent une nitrification satisfaisante à des pH mesurés faibles (4,0, par exemple), car les micro-organismes nitrificateurs peuvent bénéficier de l'alcalinisation biologique d'un nombre suffisant de microhabitats (cf. p. 387).

Comme pour les micro-organismes, on observe, pour les enzymes adsorbées sur les argiles, un relèvement du pH optimal mesuré résultant d'une baisse du pH au niveau des particules argileuses ; cette baisse de pH est évaluée à 1 ou 2 unités par SKUJINS et ses collaborateurs (1959) ; DURAND (1966) a mis en évidence un décalage moins important (0,6 unité pH) mais très significatif (fig. 120).

F. — CONSÉQUENCES DE L'ADSORPTION ET DE LA FIXATION DE L'ION NH_4^+

A l'occasion de l'étude écologique de la nitrification, nous avons rappelé que, dans le sol, l'ion ammonium pouvait se trouver soit en solution, soit adsorbé sous forme échangeable comme les autres cations, soit encore fixé sur les argiles sous forme non échangeable. On a vu qu'il n'y avait pas accord entre les auteurs en ce qui concerne l'effet de l'adsorption de l'ammonium sous forme échangeable. Certains d'entre eux admettent que c'est essentiellement sous leur forme échangeable que les ions NH_4^+ sont nitrifiés, en partie parce que les micro-organismes nitrificateurs adhèrent aux particules solides du sol. Mais d'autres estiment que la nitrification ne porte que sur l'ammonium désorbé spontanément ou par échange avec d'autres cations (GOLDBERG et GAINÉY, 1955). Quant à l'ammonium fixé, il est généralement admis que cette forme est beaucoup plus difficilement nitrifiable que l'ammonium échangeable (cf. p. 207).

G. — AUTRES EFFETS ENCORE NON OU MAL ÉLUCIDÉS

Parmi les modifications de l'activité biologique que l'on peut, sans aucun doute, attribuer aux argiles, il en est dont l'origine directe ou indirecte est encore obscure. Nous citerons celles qui ont trait à la stimulation de la fixation d'azote et à la protection des micro-organismes contre divers agents létaux.

1° Influence stimulante des argiles sur la fixation libre de l'azote atmosphérique

Au laboratoire, l'étude de cultures pures (en milieu liquide agité) a mis en évidence l'influence favorable des argiles dans le cas de l'*Azotobacter* (MACURA et PAVEL, 1959) et dans celui du *Beijerinckia* (MUTAFTSCHIEV, 1966 ; résultats non publiés).

Ces résultats sont à rapprocher de ceux que LAHAV (1962) a obtenus en ce qui concerne l'activité respiratoire de *Bacillus subtilis* sous l'influence de la bentonite.

2° Influence protectrice des argiles vis-à-vis d'agents létaux

a) *Protection des micro-organismes.* — 1° *Etudes faites au laboratoire.* — MARSHALL (1964) a comparé l'influence létale d'une dessiccation suivie d'un passage de 5 h à 50 °C sur des cultures de *Rhizobium* ayant pour support des sols artificiels composés de sable et de différentes argiles ou d'oxydes de fer apportés à la dose de 10 %. Le tableau LXX, qui synthétise les résultats d'une de ses expériences, met en évidence l'action protectrice de la montmorillonite, de l'illite et de l'hématite. La température de 50 °C choisie dans cette expérience correspond à la température moyenne à trois heures de l'après-midi à une profondeur de 3 cm dans un sol jaune sableux du Sud-Ouest australien. MARSHALL émet l'hypothèse que les particules argileuses formeraient autour des cellules microbiennes une enveloppe protectrice qui modifierait la rétention de l'eau à la surface ou à l'intérieur des cellules. L'un de nous a pu montrer que le kaolin peut protéger efficacement une souche d'*Azotobacter vinelandii* contre l'action létale d'une dessiccation de deux semaines au pF 5,9 (fig. 121).

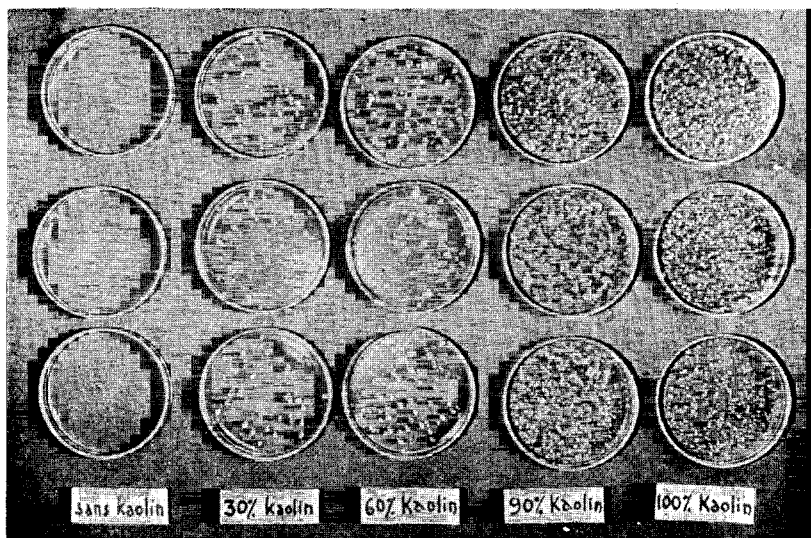


FIG. 121. — Protection, par des doses croissantes de kaolin, d'*Azotobacter vinelandii* contre l'action létale de la dessiccation. L'effet du kaolin est parfaitement reproductible, comme le montrent les trois répétitions appliquées à chacun des traitements (DOMMERGUES, 1964).

TABLEAU LXX. — INFLUENCE DE CERTAINES ARGILES ET D'OXYDES DE FER
SUR LA SURVIE DU « RHIZOBIUM TRIFOLIUM » DANS UN SABLE GRIS
(MARSHALL, 1964)

	TRAITEMENT	LOG DE LA DENSITÉ DES CELLULES VIVANTES PAR g DE SOL APRÈS UNE DESSICCATION DU SOL À 30 °C SUIVIE D'UN TRAITEMENT À LA CHALEUR (50 °C)
Argiles	Sable témoin	4,58
	Sable + kaolinite	4,19
	Sable + montmorillonite	6,36
	Sable + illite	6,04
Oxydes de fer	Sable témoin	4,71
	Sable + goëthite	4,11
	Sable + hématite	6,06

2° **Etudes faites au champ.** — L'influence protectrice de l'argile vis-à-vis de la dessiccation est particulièrement nette dans le cas de *Rhizobium trifolii*. C'est à MARSHALL et ROBERTS (1963) que revient le mérite d'avoir, pour la première fois, mis en évidence ce fait. Leur dispositif expérimental, installé dans l'Ouest australien, comportait trois types de traitements consistant en l'apport d'éléments fins : de silice finement broyée, d'argile montmorillonitique et de *fly-ash* (sous-produit industriel renfermant surtout de l'argile-calcinée). Toutes les parcelles avaient été semées en Trèfle souterrain inoculé.

Pendant la première année de végétation, la nodulation s'est révélée satisfaisante pour l'ensemble des traitements. Mais, l'année suivante, des différences sont apparues, les pourcentages moyens de nodulation s'établissant aux niveaux suivants :

Pourcentage de nodulation

Témoin	28 %
Silice fine	21 %
Argile montmorillonitique	54 %
Fly-ash	73 %

Dans les parcelles ayant reçu les deux derniers amendements, les *Rhizobium* ont bien résisté à l'action létale de la dessiccation qui s'est exercée au cours de la saison sèche séparant les deux périodes végétatives. Par contre, le traitement *silice fine* a été sans effet, ce qui laisse supposer que, dans cet essai, le facteur *nature minéralogique des argiles* a joué un rôle plus important que le facteur *granulométrie*.

b) **Protection des virus.** — Les recherches effectuées en pathologie végétale ont montré que les virus peuvent se maintenir dans le sol pendant plusieurs années à l'état adsorbé sur l'argile, qui les protège efficacement (VAN DER WANT, 1951 ; THUNG, 1955).

c) *Intérêt du problème de l'effet protecteur des argiles.* — Sur le plan agronomique, l'étude de l'effet protecteur des argiles vis-à-vis des *Rhizobium* présente un intérêt évident dans les sols soumis à une phase de dessiccation accentuée ; la connaissance des modalités de la conservation des virus dans les sols est également précieuse pour le phytopathologiste. Sur un autre plan, celui de la distribution des micro-organismes dans les sols, il est impossible de passer sous silence le rôle protecteur des argiles car il explique certaines anomalies dans la distribution zonale des micro-organismes sensibles à la dessiccation. Enfin sur le plan médical, il est probable que l'étude de l'effet protecteur des argiles, joint à celui de la matière organique, puisse aider à élucider le problème de la survie de certains micro-organismes pathogènes dans les sols (cf. p. 420).

H. — INFLUENCE DES FRACTIONS NON ARGILEUSES SUR L'ACTIVITÉ MICROBIENNE DU SOL

On a vu que le rôle de la fraction argileuse était considérable. Mais il ne faut pas perdre de vue que des variations dans la granulométrie des éléments plus grossiers peuvent avoir des conséquences importantes sur le plan biologique.

Certains micro-organismes sont favorisés par une texture grossière, alors que d'autres sont au contraire défavorisés. PARR et ses collaborateurs (1966), se fondant sur une expérimentation faite avec des microbilles de $149\ \mu$ et $37\ \mu$ de diamètre, ont montré qu'un bacille ou une population mixte préférerait la texture fine (microbilles de $37\ \mu$ de diamètre) alors qu'un *Aspergillus* préférerait la texture plus grossière.

L'effet de ces variations de la texture peut s'exercer directement ; mais il est probable qu'il s'exerce souvent aussi par l'intermédiaire du facteur eau, dont la dynamique est étroitement liée à la composition granulométrique du sol.

CHAPITRE VIII

LE FACTEUR STRUCTURE

Dans la deuxième partie de ce livre, au chapitre XIII, nous avons montré que la microflore tellurique intervient activement dans la genèse, la stabilisation et la dégradation de la structure du sol. Inversement, la structure influe considérablement sur l'activité de la microflore ; elle joue le rôle d'un véritable régulateur vis-à-vis des processus biologiques et biochimiques qui se déroulent dans le sol. Nous essaierons ici de faire le point de nos connaissances actuelles sur ce deuxième aspect du problème de la structure, en analysant séparément :

1° l'activité et la répartition des micro-organismes dans l'*agrégat* ⁽¹⁾ considéré en tant qu'unité structurale *isolée* ;

2° l'activité des micro-organismes dans l'ensemble de l'*édifice structural* ⁽¹⁾ que constitue le sol.

Nos connaissances sur le premier point (microbiologie de l'*agrégat*) sont encore limitées, mais suffisantes pour avancer des hypothèses valables sur les mécanismes par lesquels l'agrégation régit l'activité de la microflore tellurique. Par contre, nous ne savons presque rien de l'influence de l'édifice structural, considéré dans son ensemble, sur l'activité microbienne du sol et nous évoquerons cette question très rapidement malgré son intérêt pratique.

A. — MICROBIOLOGIE DE L'AGRÉGAT

1° Données expérimentales

a) *Distribution des micro-organismes à l'intérieur des agrégats.* — 1° Pour savoir s'il existe dans l'agrégat des zones privilégiées, la première idée qui vient à

(1) La définition de l'agrégat et celle de l'édifice structural sont données page 354.

l'esprit consiste à étudier la distribution des micro-organismes dans un plan passant par le centre de cet élément structural (*méthode directe*). En fait, les difficultés sont telles que ce type de recherche ne s'est développé qu'avec le perfectionnement des techniques des plaques minces imprégnées de résine synthétique ; encore sont-elles fastidieuses. JONES et GRIFFITHS (1964) ont établi, par ces méthodes, quelques cartes de distribution des microcolonies bactériennes dans des agrégats de 2 mm de diamètre (fig. 122). Les premières investigations indiquent une distribution uniforme dans un des types de sol étudiés et une distribution caractérisée par une densité microbienne décroissante de l'extérieur à l'intérieur de l'agrégat dans le deuxième type de sol. Bien entendu, ces résultats sont trop fragmentaires pour qu'on puisse les généraliser ; ils méritent toutefois d'être signalés en raison de leur caractère original.

2° Une autre méthode permettant d'étudier l'influence de la structure sur la microflore consiste à comparer dans un même sol la densité de diverses espèces de micro-organismes ou groupements de micro-organismes dans des classes d'agrégats de dia-

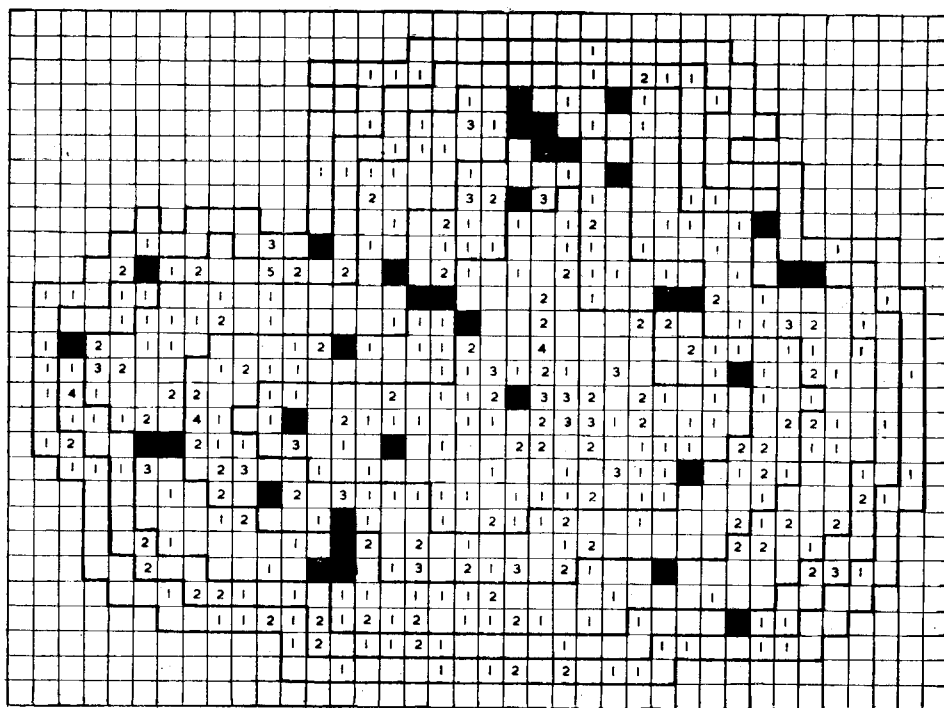


FIG. 122. — Carte de distribution des colonies microbiennes dans une section à travers un agrégat. Chaque carré sur la carte a 70μ de côté. Les chiffres indiquent le nombre de colonies bactériennes présentes dans chaque carré. Les carrés noirs correspondent à des vides ou à des zones où des fragments de matière organique ont gêné l'observation (JONES et GRIFFITHS, 1964).

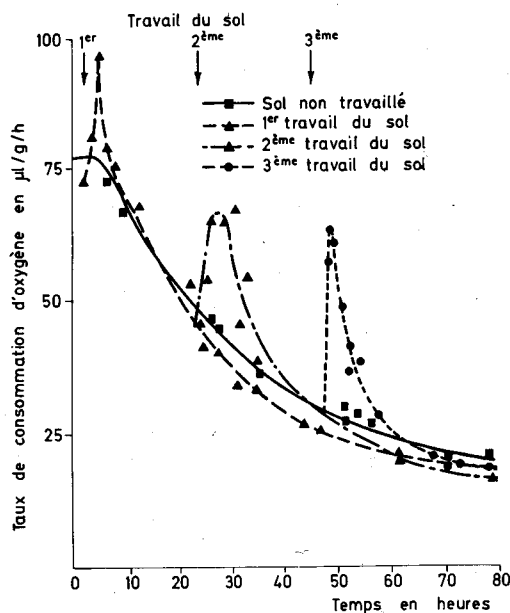


FIG. 123. — Influence de la destruction des agrégats sur l'activité respiratoire du sol, mesurée par l'absorption d'oxygène (ROVIRA et GREACEN, 1957).

mètres différents (*méthode indirecte*). Les résultats obtenus par les quelques expérimentateurs qui se sont penchés sur ce problème (SEIFERT, 1963b ; KHAO et CHEN, 1964) suggèrent qu'il existe tous les intermédiaires entre une distribution uniforme et une distribution comportant des zones privilégiées au moins pour certains micro-organismes ou certains groupes de micro-organismes.

b) Effet protecteur de l'agrégation vis-à-vis de la minéralisation du carbone organique. — L'agrégation ralentit l'activité respiratoire du sol (mesurée soit par le dégagement de CO_2 , soit par la consommation d' O_2). Elle protège donc le carbone organique du sol contre une biodégradation rapide.

Cette action protectrice a été vérifiée par deux méthodes :

1° Comparaison de l'activité respiratoire d'agrégats de dimension variable. — L'activité respiratoire des agrégats croît lorsque leur diamètre décroît. Si, au lieu d'exprimer les résultats en fonction du diamètre, on les exprime en fonction de la surface spécifique ou surface externe totale d'un gramme d'agrégats du diamètre considéré (cette caractéristique étant donc proportionnelle à l'inverse du diamètre), on peut dire que l'activité respiratoire des agrégats croît dans le même sens que leur surface spécifique (SEIFERT, 1964).

2° Influence de la destruction mécanique des agrégats sur l'activité respiratoire. — La destruction mécanique des agrégats accroît l'activité respiratoire du sol. Elle stimule donc la biodégradation des composés carbonés organiques du sol. Il s'agit bien d'une

dégradation biologique et non d'une oxydation chimique car l'adjonction au sol d'antiseptiques puissants (par exemple, chlorure mercurique) prévient toute activité respiratoire. ROVIRA et GREACEN (1957) ont étudié avec précision l'effet sur l'activité respiratoire de l'écrasement et du cisaillement des agrégats dans des conditions simulant le travail du sol au champ. La figure 123, qui correspond à un sol limoneux, met bien en évidence les flambées d'activité respiratoire consécutives à chaque opération provoquant la destruction de la structure. Ces résultats démontrent que le travail du sol accélère la dégradation de la matière organique en détruisant les agrégats.

c) *Effet protecteur de l'agrégation vis-à-vis de la minéralisation de l'azote organique.* — L'agrégation exerce, vis-à-vis de la minéralisation de l'azote, un effet protecteur qui rappelle l'effet protecteur vis-à-vis du carbone organique. Cet effet s'atténue d'autant plus que les agrégats subissent une destruction mécanique plus poussée. Ainsi WARING et BREMNER (1964) ont démontré que plus le broyage du sol est accentué, plus la minéralisation ultérieure de l'azote est intense. Le tableau LXXI

TABLEAU LXXI. — INFLUENCE DU BROUAGE DU SOL SUR LA MINÉRALISATION DE L'AZOTE (EXPRIMÉE EN ppm $\text{NO}_3\text{—H} + \text{NH}_3\text{—N}$) DANS TROIS TYPES DE SOLS INCUBÉS VINGT ET UN JOURS À DEUX NIVEAUX D'HUMIDITÉ (HUMIDITÉ ÉQUIVALENTE ET SOUS LAME D'EAU) (d'après WARING et BREMNER, 1964)

TYPE PÉDOLOGIQUE	TYPE D'INCUBATION	DIAMÈTRE DES AGRÉGATS APRÈS BROUAGE	
		1,65 mm	0,17 mm
<i>Rendzine</i>	Humidité équivalente	30	45
	Sous lame d'eau	52	75
<i>Chernozem</i>	Humidité équivalente	49	65
	Sous lame d'eau	64	88
<i>Brunizem</i>	Humidité équivalente	21	28
	Sous lame d'eau	41	68

synthétise quelques-uns des résultats obtenus par ces auteurs sur des sols soumis à deux modes de broyage (l'un amenant les agrégats à un diamètre inférieur à 1,65 mm, l'autre, plus poussé, amenant à un diamètre inférieur à 0,17 mm) et mis ensuite à l'incubation deux semaines à 30 °C, à deux niveaux d'humidité : humidité voisine de l'humidité équivalente, et sous lame d'eau.

SEIFERT (1963b) attribue à l'éclatement mécanique des agrégats l'action stimulante secondaire du gel sur la nitrification dans les sols à structure grossière.

On a remarqué que l'effet protecteur de l'agrégation ne se manifeste pas dans tous les types de sol (ROBINSON, 1967) ; mais l'origine exacte de cette absence d'effet protecteur n'a pas encore été élucidée.

d) **Nitrification et dénitrification au sein des agrégats.** — De même que l'activité respiratoire, la nitrification dans les agrégats croît lorsque leur diamètre décroît ; si l'on s'exprime en fonction de la surface spécifique, dont la définition a été donnée plus haut, il revient au même de dire que la nitrification dans les agrégats croît dans le même sens que leur surface spécifique. Cette règle se vérifie *in situ* et aussi lors d'une incubation ultérieure au laboratoire puisque, là encore, l'accroissement de la teneur en nitrate des agrégats est d'autant plus important que leur surface spécifique est plus élevée (fig. 124). Comme dans le cas du dégagement de CO_2 , la courbe repré-

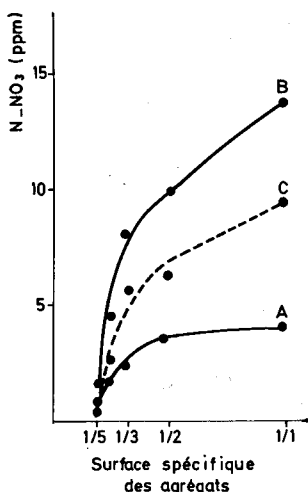


FIG. 124. — Influence de la surface spécifique des agrégats sur la nitrification (SEIFERT, 1964). Courbe A : teneur en nitrate des agrégats au moment du prélèvement, c'est-à-dire avant incubation. Courbe B : teneur en nitrate des agrégats après incubation de 14 jours à 22 °C. Courbe C : accroissement de la teneur en nitrate au cours de l'incubation (courbe déduite des courbes B et C). Remarque : en abscisse, on n'a pas porté les valeurs des surfaces spécifiques proprement dites, mais les inverses des diamètres exprimés en mm.

sentative du phénomène (qui est obtenue à une humidité correspondant sensiblement à deux fois l'hygroscopicité maximale) présente une allure hyperbolique. Cette courbe prend une allure linéaire lorsque la teneur en eau des agrégats diminue et atteint la valeur correspondant à l'hygroscopicité maximale. Nous verrons au paragraphe suivant comment Seifert (1964) interprète les interactions humidité $\times$ surface spécifique des agrégats.

Bien qu'il n'existe pas encore de démonstration expérimentale *directe* de l'influence du diamètre des agrégats sur la dénitrification, certains travaux — dont ceux de GREENWOOD (1962, 1963), GREENWOOD et GOODMAN (1964) — indiquent que, même dans des sols où la concentration en O_2 dans l'espace compris entre les agrégats est élevée, le noyau central des agrégats peut être dépourvu d'oxygène et être le siège d'une dénitrification d'autant plus intense que le diamètre des agrégats est élevé.

2° Mécanismes réglant l'activité biologique dans les agrégats

La protection de la matière organique du sol dans les agrégats peut être attribuée à deux mécanismes qui interviennent simultanément ou indépendamment : 1° ralentissement de la diffusion de l'oxygène à l'intérieur de l'agrégat ; 2° protection mécanique de la matière organique à l'intérieur de l'agrégat.

a) *Ralentissement de la diffusion de l'oxygène à l'intérieur de l'agrégat.*

— La diffusion de l'oxygène à l'intérieur de l'agrégat est régie essentiellement par les cinq facteurs suivants :

1° **Diamètre moyen de l'agrégat.** — La diffusion de l'oxygène est d'autant moins bonne que le diamètre moyen de l'agrégat est plus élevé.

2° **Porosité de l'agrégat.** — Le volume des pores, leur forme et leur nature interviennent très certainement. Mais, à part les travaux de GREENWOOD et GOODMAN (1964), nous ne disposons pratiquement d'aucune donnée expérimentale sur ce point.

3° **Concentration de l'oxygène à la surface de l'agrégat.** — Elle dépend elle-même de la diffusion de l'oxygène entre les agrégats — ou diffusion globale de l'oxygène dans l'ensemble de l'édifice structural que constitue le sol.

4° **Consommation de l'oxygène dans la zone périphérique de l'agrégat.** — Elle dépend de l'activité de la microflore de l'agrégat. Lorsque cette activité est accrue à la suite d'une réhumectation du sol succédant à une phase de dessiccation, on peut s'attendre à un développement des processus anaérobies. C'est ainsi que GREENWOOD (1963) explique la recrudescence de la dénitrification lors des pluies succédant à une période sèche. Ce processus pourrait avoir une importance non négligeable en zone tropicale sèche.

5° **Humidité de l'agrégat.** — La présence d'eau dans un système poreux ralentissant considérablement la diffusion de l'oxygène dans ce système, on conçoit facilement que l'accroissement de l'humidité renforce l'effet modérateur de l'agrégation vis-à-vis des processus biologiques aérobies tels que la nitrification. C'est au renforcement de cet effet modérateur sous l'influence d'une humidité assez élevée que SEIFERT (1964) attribue l'allure hyperbolique de la relation nitrification-surface spécifique des agrégats alors que cette relation présente un caractère linéaire à une humidité plus faible.

En se fondant sur la loi de diffusion de FICK, GREENWOOD (1963) a proposé une équation qui permet d'estimer le ralentissement de l'activité respiratoire des agrégats compte tenu des cinq paramètres énumérés ci-dessus.

On admet actuellement que les agrégats peuvent souvent présenter : 1° à l'extérieur une zone aérobie ; 2° à l'intérieur un *noyau anaérobie* : le passage d'une zone à l'autre correspond à un seuil de concentration en oxygène de la solution du sol de

4×10^{-6} M, seuil au-dessous duquel les processus anaérobies succèdent pratiquement sans transition aux processus aérobie (GREENWOOD, 1963).

b) Protection mécanique des substrats organiques à l'intérieur des agrégats. — Le développement ou la circulation des éléments de la microflore et de la microfaune à l'intérieur des agrégats s'arrêtent lorsque le diamètre des pores s'abaisse au-dessous d'un seuil variable suivant les micro-organismes considérés : on dit qu'il y a empêchement mécanique ou physique (*physical* ou *mechanical impedance*) (GRIFFIN, 1963 ; ROVIRA et GREACEN, 1957).

Considérons une coupe dans un agrégat (fig. 125) comportant deux pores A et B remplis d'eau dont un seul héberge des micro-organismes (pore A). La matière orga-

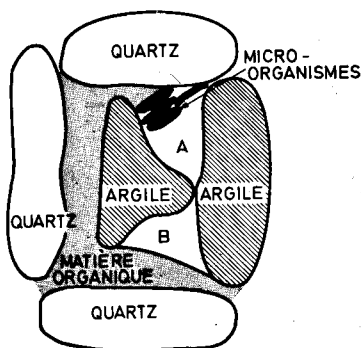


FIG. 125. — Modèle d'agrégat de sol (GREENWOOD, 1968).

nique bordant le pore B ne sera pas biodégradée car : 1° les micro-organismes ne peuvent pénétrer en B ; 2° les enzymes exocellulaires ne peuvent non plus l'atteindre car elles sont adsorbées sur l'argile (GREENWOOD, 1968). En ce qui concerne la microfaune, on sait, par exemple, que les Nématodes ne peuvent se déplacer que si les pores sont assez larges. Quant à la microflore, il est admis que l'empêchement mécanique s'exerce fréquemment vis-à-vis de la sporulation des Champignons : c'est ainsi que chez *Curvularia ramosa* la sporulation est fortement réduite ou disparaît lorsque le diamètre des pores est inférieur à 23μ (GRIFFIN, 1963). Lorsque le diamètre des pores tombe au-dessous de 3μ et surtout au-dessous de 1μ , les Bactéries commencent à subir l'effet de l'empêchement mécanique (ROVIRA et GREACEN, 1957). D'après ces auteurs, c'est essentiellement ce mécanisme qui est à l'origine de l'effet protecteur de l'agrégation vis-à-vis de la minéralisation du carbone organique, puisque l'éclatement des agrégats à la suite d'un travail du sol accélère cette minéralisation en exposant à l'attaque microbienne de la matière organique auparavant inaccessible (fig. 123). C'est aussi ce mécanisme qu'il faut invoquer pour expliquer les résultats des travaux de WARING et BREMNER (*loc. cit.*) sur l'influence stimulante du broyage du sol sur la minéralisation de l'azote organique.

B. — MICROBIOLOGIE DE L'ÉDIFICE STRUCTURAL

Après avoir présenté les caractéristiques microbiologiques de l'unité structurale que constitue l'agrégat, il serait logique d'aborder le problème plus général de la microbiologie de ce que nous appelons *l'édifice structural*, c'est-à-dire de l'ensemble des agrégats réunis en macro-agrégats pour former le sol lui-même. En fait, il s'agit là d'un problème très complexe en lui-même et qui, sur le plan de la microbiologie, se prête mal à l'expérimentation, en raison de l'interférence de facteurs difficiles à dissocier, de sorte que l'on connaît très mal l'influence de la nature des édifices structuraux sur l'activité et la composition de la microflore tellurique. On peut penser que la nature de l'édifice structural intervient essentiellement en réglant la *diffusion de l'oxygène entre les agrégats* (GREENWOOD et GOODMAN, 1964). Il est établi que la diffusion de l'O₂ dans l'espace compris entre les agrégats varie dans le même sens que le diamètre des agrégats (tableau LXXII) ; mais on a vu au paragraphe précédent que la *diffusion de l'O₂ à l'intérieur des agrégats* varie en sens inverse de leur diamètre, de sorte qu'il existe pour chaque sol un diamètre optimal pour lequel la diffusion de l'O₂ dans l'ensemble de l'édifice structural est maximale.

TABLEAU LXXII. — INFLUENCE DE LA TAILLE DES AGRÉGATS
SUR LE TAUX DE DIFFUSION DE L'OXYGÈNE DANS L'ÉDIFICE STRUCTURAL D'UN SOL AU pF 1
(BRANDT et coll., 1964)

TAILLE DES AGRÉGATS	TAUX DE DIFFUSION DE L'OXYGÈNE 10 ⁻⁸ g. cm ⁻² min ⁻¹
4-6 mm	41,1
2-4 mm	39,1
1-2 mm	34,7
0,42-1 mm	24,0
0,17-0,42 mm	26,6

CHAPITRE IX

VARIATIONS SAISONNIÈRES

Les variations saisonnières des densités microbiennes et de l'activité biologique du sol sont le reflet des effets combinés de nombreux facteurs de l'environnement, dont les plus importants sont l'humidité, la température et les apports de substrats énergétiques par les organismes producteurs, notamment les végétaux (exsudats racinaires, litières, débris de récolte, etc.).

L'étude des variations saisonnières *in situ* ne présente aucune difficulté majeure, si ce n'est une difficulté d'échantillonnage. En effet, les variations saisonnières sont souvent du même ordre de grandeur que les variations dans l'espace (dans un même horizon d'un sol donné), qui sont elles-mêmes à l'origine de l'erreur d'échantillonnage. Pour établir des graphiques valables de variations saisonnières, il est donc nécessaire de prendre certaines précautions telles que l'homogénéisation préalable des sols des parcelles où l'on fera les prélèvements.

Les résultats que nous présenterons ici concernent uniquement des faits bien établis qui ont été confirmés à plusieurs reprises par divers auteurs travaillant en région tempérée ou tropicale. Nous évoquerons d'une part les variations saisonnières d'activité microbiologique, qui ne sont autres que les variations de la teneur du sol en produits de métabolisme microbien (par exemple, variations de la teneur en azote ammoniacal, pour l'étude de l'activité ammonifiante nette), d'autre part, les variations des densités microbiennes ; celles-ci sont beaucoup plus délicates à observer et à interpréter en raison de l'existence de variations très rapides, c'est-à-dire se manifestant dans l'espace de *quelques heures*. Ces fluctuations rapides concernent en particulier les Bactéries ; on les retrouve aussi chez d'autres organismes unicellulaires dont la durée de vie est parfois très courte (BURGES, 1958).

1° Variations saisonnières dans les sols tempérés

Nos connaissances reposent principalement sur des numérations de la microflore totale ou de certains groupes physiologiques (cellulolytiques, ammonifiants, nitrifiants), plus rarement sur des mesures de dégagement de gaz carbonique *in situ* ou des dosages

de NH_3 ou de NO_3^- effectués sur des échantillons fraîchement recueillis. Aussi faut-il être extrêmement prudent lorsqu'il s'agit d'interpréter les données disponibles.

De plus, si l'on considère un sol, les fluctuations saisonnières de ses différents groupes physiologiques et de sa microflore totale ne sont pas parallèles : il arrive par exemple que la microflore nitrifiante présente deux maximums annuels et la microflore totale un seul. Les résultats d'une étude ne permettent donc de porter de jugement valable que sur les activités analysées ou sur la densité de la population.

a) Indications générales. — On constate souvent que, dans les sols forestiers, la microflore totale présente deux maximums annuels, l'un au printemps (mars-avril), l'autre en automne. A l'hiver correspond un minimum net attribuable au froid tandis qu'en été on observe une dépression moins marquée. BURGES (1958) pense qu'elle est liée à la sécheresse dans les régions subarides alors que sous les climats plus tempérés elle correspondrait à l'épuisement des aliments facilement utilisables. En automne, la chute des feuilles apporte des matières organiques fraîches qui sont aussitôt en partie consommées, puis les températures basses de l'hiver diminuent l'activité biologique, la faune s'enterre, la microflore vieillit ou est décimée. Le réchauffement printanier permet une reprise de l'activité d'autant plus que le gel a libéré des aliments nouveaux.

Dans les sols cultivés, on trouve souvent un seul maximum, parfois deux pour certaines catégories de germes, mais c'est au printemps entre mars et mai que les chiffres sont les plus élevés.

Ces indications générales reposent sur des numérations dont la signification est douteuse dans le cas des Bactéries et des Actinomycètes, qui ne sont guère interprétables dans celui des Champignons et, en tout cas, ne sont pas forcément le reflet de l'activité biologique réelle.

En outre la zone tempérée comprend des régions de climats variés, océanique à continental, froid à subtropical et les exceptions aux règles ci-dessus sont nombreuses. D'une région à l'autre, les fluctuations des facteurs climatiques présentent des rythmes et des amplitudes bien différents qui se reflètent dans l'évolution de la microflore. LOUB a analysé dans diverses publications de nombreux sols d'Europe et pense que la dynamique de leurs populations est semblable d'une année à l'autre dans un milieu écologique et pédologique donné. Au contraire elle est différente si l'on s'adresse à des milieux différents et son allure serait caractéristique de chacun d'entre eux. Ainsi l'activité cellulolytique mesurée par la perte de poids de feuilles de papier placées dans le sol présente un maximum au printemps et un ralentissement en automne dans un sol brun et une pararendzine d'Europe centrale et un unique maximum automnal dans un pseudogley (KÖNIG, 1965).

b) Facteurs limitants. — V. JENSEN (1963a) montre que les fluctuations numériques de la microflore sont parallèles au Danemark dans un mull et un mor avec un maximum peu marqué en juin et un pic net en hiver ; dans le mull il existe une corrélation satisfaisante entre la densité de la population et l'humidité ; le taux de matière organique vient ensuite et enfin la température. Les coefficients de corrélation

ne sont pas significatifs dans le mor où les fluctuations sont plus marquées dénotant peut-être une instabilité de la population.

Dans le Tennessee, WITKAMP (1966b) constate que le dégagement de CO_2 est sous la dépendance, en premier lieu de la température, puis de l'âge de la litière et enfin de l'humidité. Ce dégagement montre un maximum très net en juin, mais, seule, la litière présente un pic automnal.

Dans les régions à saison sèche marquée (zone des chernozems du sud, serozems, région méditerranéenne selon SAMTSEVITCH, 1955 et LOUB, 1967), l'humidité est le facteur limitant principal. Dans les chernozems du sud, l'activité biologique (ammonification et nitrification nettes) comme la densité de la population sont maximales de l'automne au printemps ; c'est d'ailleurs en hiver que le sol est le plus riche en aliments énergétiques émis par les racines des arbres.

Dans les régions septentrionales où l'humidité est généralement suffisante, la température pourrait être plus importante. En Estonie (RAKHNO, 1963 ; AKSEL', 1965), dans un sol non enrichi, l'humidité paraît le facteur principal et la densité de la population est maximale en hiver. Si l'on apporte du fumier, c'est la coïncidence entre la date de l'apport et la température qui paraît déterminante. En septembre, la fumure déclenche une prolifération explosive et de courte durée par suite de l'épuisement rapide de la matière organique labile. En décembre, même si le sol est gelé, la fumure exerce un effet stimulant presque aussi marqué mais plus progressif et surtout plus prolongé jusqu'en mai ; il semble donc que l'activité soit moins influencée en hiver par la matière organique que ne l'est la densité microbienne ; la minéralisation retardée mettrait ainsi les éléments fertilisants à la disposition des cultures de printemps au moment où elles en ont le plus besoin.

2° Variations saisonnières dans les sols tropicaux

Nous envisageons ici uniquement le cas des sols des régions tropicales sèches ou semi-arides, où se succèdent de longues périodes sans aucune précipitation (saisons sèches) et de longues périodes humides (saisons des pluies). Dans ce cas, les variations saisonnières sont étroitement liées au régime hydrique des sols ; elles comportent les quatre phases principales suivantes :

a) **Phase de dessèchement.** — Après l'arrêt des pluies, le sol se dessèche progressivement. Mais, aussi longtemps que la tension de l'eau dans le sol n'atteint pas le seuil critique de 400 bars (pF : 5,6), certains secteurs de la microflore restent encore actifs (cf. p. 412). En ce qui concerne le cycle du carbone, on observe d'abord un arrêt de la cellulolyse au voisinage d'une tension de 15 bars (pF : 4,2) ; mais la dégradation des hémicelluloses, amidons, polysaccharides divers et sucres se poursuit pendant toute cette phase. C'est ce qui explique que la teneur du sol en carbone minéralisable (mesurée par le dégagement de CO_2 d'échantillons réhumidifiés au laboratoire) diminue progressivement pendant le ou les premiers mois qui suivent l'arrêt des pluies. Parallèle-

ment, la teneur du sol en azote ammoniacal augmente, ce qui s'explique bien par le fait que la microflore ammonifiante comporte une certaine proportion de micro-organismes (notamment des Champignons) qui peuvent minéraliser activement l'azote, même lorsque la tension de l'eau est élevée (100 à 400 bars). La nitrification, par contre, est inhibée de sorte que l'azote ammoniacal s'accumule.

b) Phase de dessiccation. — Lorsque la tension de l'eau dans le sol dépasse 400 bars, toute activité biologique cesse. Le sol subit des modifications de ses propriétés physiques et chimiques qui ont été analysées antérieurement (p. 415) : ce sont essentiellement : 1° une augmentation de la teneur du sol en azote minéral, notamment en azote ammoniacal ; 2° une augmentation de la teneur du sol en carbone minéralisable (mise en évidence par un accroissement du dégagement de CO_2 des échantillons réhumidifiés au laboratoire), cette augmentation résultant notamment de la fragmentation de la matière organique du sol et de l'augmentation de la teneur en oligo-saccharides, hexoses et pentoses.

Parallèlement, la densité microbienne s'effondre, surtout dans les horizons superficiels.

c) Phase de réhumectation. — Lorsque les premières pluies réhumectent le sol, on observe une flambée de l'activité biologique, qui s'explique par une stimulation secondaire succédant à la dessiccation (cf. p. 420). Cette stimulation porte non seulement sur la fraction carbonée labile du sol, mais peut même atteindre la fraction humique : on assiste alors à une biodégradation très rapide des substances humiques, que BONFILS (1963) désigne sous le terme de *fonte humique*. Cette stimulation porte aussi sur la minéralisation brute de l'azote et notamment sur l'ammonification, de sorte qu'en début de saison des pluies, les plantes disposent d'un stock d'azote minéral relativement important.

d) Phase humide. — Pendant la première partie de cette phase, la teneur du sol en carbone total baisse sensiblement à la suite de l'accélération des processus de minéralisation de la matière organique ; mais le stock carboné se reconstitue progressivement grâce aux apports des plantes.

La faible teneur en azote minéral que l'on observe pendant toute cette phase n'est pas due à un ralentissement des processus d'ammonification ou de nitrification brutes, mais à l'absorption de cet élément par les racines des plantes et au lessivage parfois intense.

CHAPITRE X

DISTRIBUTION DES MICRO-ORGANISMES ET DES ENZYMES

Suivant l'échelle à laquelle on se place, on peut envisager trois types de distribution des micro-organismes dans les sols :

— à l'échelle planétaire, il s'agit de la *distribution géographique*, qui conduit à la notion d'ubiquité ou d'endémisme ;

— à l'échelle du mètre ou du décimètre, il s'agit de la *distribution horizontale* (si l'on considère un plan horizontal) ou de la *distribution verticale* (si l'on considère un profil) ;

— à l'échelle de la colonie microbienne, il s'agit de la *microdistribution*, qui conduit à la notion de microhabitat.

I. — DISTRIBUTION GÉOGRAPHIQUE DES MICRO-ORGANISMES

On admet, en général, que la microflore tellurique est remarquablement ubiquiste. En effet, la plupart des micro-organismes dont on a étudié la répartition à l'échelle planétaire se retrouvent dans toutes les zones climatiques du globe. Tel est le cas d'*Azotobacter chroococcum*, présent aussi bien dans les sols polaires que dans les sols tempérés ou tropicaux. Tel est le cas des *Trichoderma* ou de nombreux *Fusarium* qui se développent également dans les sols froids et les sols tropicaux (MEYER, 1963).

Mais la règle de l'ubiquité n'est pas absolue, loin de là. Elle souffre, en effet, *sur le plan spécifique*, des exceptions chez les Champignons ou même chez les Bactéries. Un exemple classique nous est fourni par les espèces du genre *Beijerinckia* dont l'aire de répartition est pratiquement limitée aux régions tropicales.

Sur le plan variétal, les exceptions sont si fréquentes qu'il est possible de parler d'un endémisme variétal. Ainsi, à l'intérieur de l'espèce *Azotobacter vinelandii*, nous avons isolé des souches très résistantes à la dessiccation dans des sols des régions tropicales sèches, alors que les sols des régions tropicales humides sont habités par des souches beaucoup plus sensibles. Les souches de *Lipomyces starkeyi* isolées des sols

de région tropicale sèche diffèrent des souches isolées des sols des régions tempérées et des sols des régions tropicales humides (où la température maximale des sols est toujours inférieure à la température maximale en zone tropicale sèche) par une température maximale beaucoup plus élevée : 40 à 45 °C au lieu de 30 à 35 °C (MUTAFTSCHIEV, 1966, résultats non publiés). C'est par cet endémisme variétal qu'on peut expliquer le décalage de 5 à 15 °C, vers les températures plus élevées, de l'optimum de nitrification et de dégradation de la matière organique dans les sols de régions tropicales sèches, par rapport aux sols des régions tempérées (p. 202).

II. — DISTRIBUTION À L'ÉCHELLE MÉTRIQUE OU DÉCIMÉTRIQUE

1° Distribution verticale des micro-organismes et des enzymes

Dans les profils, la distribution des micro-organismes (Algues exceptées) et des enzymes du sol suit d'assez près la distribution verticale des substrats énergétiques qui décroît avec la profondeur. Mais divers facteurs interviennent pour altérer cette distribution : composition de l'atmosphère du sol, pH, humidité, teneur en éléments minéraux assimilables, présence de substances antimicrobiennes ; nous en donnerons quelques exemples en examinant la distribution verticale des Bactéries, Actinomycètes et Champignons, la distribution verticale des Algues, la distribution verticale des enzymes.

Au lieu d'établir les courbes de distribution, on se contente parfois de déterminer l'épaisseur du profil biologiquement actif, c'est-à-dire la profondeur jusqu'à laquelle on rencontre encore une activité biologique notable (que l'on peut facilement évaluer globalement par des mesures de dégagement de gaz carbonique ou d'absorption d'oxygène). L'épaisseur du profil biologiquement actif varie considérablement d'un type pédologique à l'autre. Dans certains lithosols, cette profondeur est réduite à quelques centimètres, voire quelques millimètres ; elle atteint couramment 1 m à 1,5 m dans des vertisols et peut aller jusqu'à plusieurs mètres ou même davantage dans certains cas particuliers, tels que des tourbières tropicales (VISSER, 1964b).

a) *Distribution verticale des Bactéries et des Champignons.* — L'allure des courbes de distribution verticale des Bactéries, Actinomycètes et Champignons peut *grosso modo* se ramener aux trois types suivants :

1° *Courbe de distribution de type décroissant* (fig. 126, courbe a). — Après avoir présenté un maximum très rapproché de la surface du sol ou parfois confondu avec la surface, la densité décroît progressivement avec la profondeur. La réduction de la micropopulation à la surface même du sol est due à l'action létale du soleil et de la

dessiccation ou à l'arrachement des éléments fins (argiles) par l'érosion. Ce type de distribution est le plus fréquent.

Dans un même type de sol, la courbe de distribution diffère suivant le groupe ou l'espèce microbienne considérée. Ainsi, les Champignons sont en général caractérisés par une pénétration en profondeur réduite par rapport à celle des Bactéries. Toutefois, comme pour les Bactéries, les courbes de distribution varient d'une espèce à l'autre. Certains Champignons sont présents dans tout le profil ; d'autres sont localisés aux premiers centimètres supérieurs ; d'autres enfin préfèrent les horizons profonds. La teneur de l'atmosphère du sol en CO_2 joue un rôle déterminant dans la distribution de la microflore fongique (cf. p. 431).

2° Courbe de distribution de type convexe. — La densité microbienne présente un maximum prononcé dans un horizon intermédiaire ou profond.

Ce maximum peut être unique (fig. 126, courbe b). Tel est le cas de la courbe de distribution des *Azotobacter* dans certaines rendzines forestières (BAUZON et coll., 1967) : la densité relativement faible en surface pourrait s'expliquer par la sensibilité des *Azotobacter* aux toxines végétales, apportées par les litières forestières, qui ne sont pas biodégradées assez rapidement dans les horizons supérieurs.

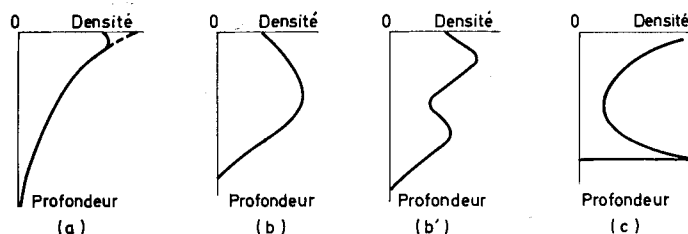


FIG. 126. — Principaux types de distribution des Bactéries telluriques. (a), type décroissant ; (b), type convexe à un maximum ; (b'), type convexe à 2 maximums ; (c), type concave.

Ce maximum peut accompagner un maximum de surface (fig. 126, courbe b'). Ainsi, dans les podzols, la courbe de distribution de la microflore dégradant les complexes organo-ferriques présente deux maximums : au-dessous du maximum caractérisant l'horizon A_1 , se trouve presque toujours un deuxième maximum, d'ailleurs plus discret, qui correspond à l'horizon BFe (CRAWFORD, 1956 ; DOMMERGUES et DUCHAU-FOUR, 1965).

3° Courbe de distribution de type concave (fig. 126, courbe c). — Dans les horizons intermédiaires, la densité est plus faible que dans les horizons de surface et de profondeur. Ce type de distribution, qui est beaucoup plus rare, caractérise de nombreux groupes physiologiques de micro-organismes dans les lithosols à humus brut installés sur dalle calcaire. La diminution de densité observée dans l'horizon intermédiaire est

due à l'accumulation dans cet horizon de toxines antimicrobiennes d'origine végétale ou peut-être synthétisées *in situ* par certains micro-organismes. La stimulation en profondeur va de pair avec une augmentation du pH due à la proximité de la dalle calcaire sur laquelle repose le sol (GILOT et DOMMERGUES, 1967).

b) Distribution verticale des Algues. — La distribution verticale des Algues est bien particulière, car elle est essentiellement régie par le facteur *lumière* et accessoirement par le facteur *humidité*.

Dans les sols engorgés, la microflore algale est localisée à la surface ou aux quelques millimètres supérieurs du sol. *Dans les sols non engorgés*, la microflore algale est souvent la plus dense à 1 cm environ au-dessous de la surface ; ainsi en saison des pluies, dans les sols très sableux d'Afrique occidentale, on peut voir avec une très grande netteté les Algues se développer en un film continu d'une épaisseur de l'ordre du millimètre placé à 0,5 à 1 cm au-dessous de la surface même du sol.

Dans les sols halomorphes comportant une croûte formée par les efflorescences salines (par exemple, Chotts nord-africains), les Algues se multiplient en nappe immédiatement au-dessous de cette croûte transparente.

Les Algues sont donc en principe localisées aux 3 cm supérieurs du profil, car la lumière ne pénètre pas au-delà de cette limite extrême. On en trouve cependant dans le sol jusqu'à 1 m de profondeur et plus. D'après certains auteurs, les Algues vivraient dans ces horizons profonds en hétérotrophes, puisque la photosynthèse leur est interdite. D'autres auteurs estiment qu'elles sont simplement entraînées par lessivage (cf. p. 54).

c) Distribution verticale des enzymes. — L'allure des courbes de distribution verticale des enzymes est très fréquemment du type décroissant ; cette diminution progressive des teneurs en enzymes avec la profondeur a été mise en évidence pour de nombreuses enzymes telles que : maltase, lactase, amylase, saccharase et phosphatase. On en trouvera un exemple au tableau XV. Mais il existe des exceptions à ce type de distribution et, en outre, il n'y a pas nécessairement parallélisme entre les courbes de distribution des différentes enzymes dans un même sol. Ainsi, KISS et PETERFI (1961) signalent que, dans une tourbière, le taux de saccharase reste sensiblement constant de la surface à une profondeur de 330 cm, alors que la teneur des autres enzymes étudiées (maltase, lactase, amylase) diminue nettement avec la profondeur.

2° Distribution horizontale des micro-organismes

Elle est étroitement liée à l'hétérogénéité du sol, bien connue des pédologues et des agronomes. Cette hétérogénéité que l'on qualifie parfois de macrohétérogénéité — par comparaison avec la microhétérogénéité (cf. *infra*) — est due non seulement à l'hétérogénéité de la roche mère et du sol qui en est issu, mais aussi à l'hétérogénéité induite par la végétation, qui modifie le milieu physique et chimique à la fois par effet rhizosphérique (cf. p. 548) et par l'intermédiaire de son couvert. En ce qui concerne ce

dernier point, signalons que les arbres jouent un rôle de tout premier plan en créant une hétérogénéité très marquée dans la distribution de nombreux éléments et du pH (fig. 127). Même dans les conditions les plus favorables — sols cultivés — la distribution des micro-organismes présente toujours une certaine irrégularité qui rend nécessaire, dans tous les cas, un échantillonnage très soigné.

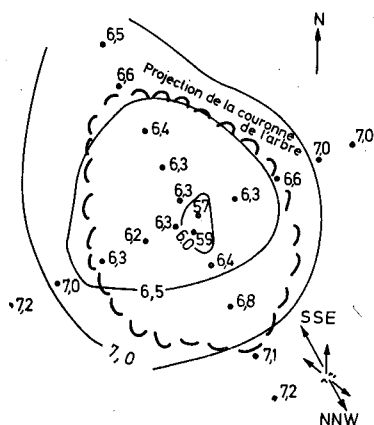


FIG. 127. — Hétérogénéité du sol induite par un arbre (*Pinus contorta*). L'acidification due à la litière va en décroissant du tronc vers l'extérieur. Les lignes d'égal pH correspondent aux pH 6,5 et 7,0. On remarquera l'influence des vents dominants (voir rose des vents au bas de la figure) (ZINKE, 1962).

III. — MICRODISTRIBUTION. NOTION DE MICROHABITAT

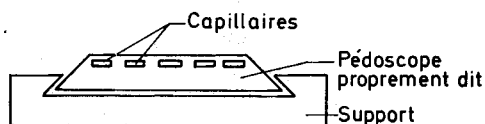
Si, au lieu d'étudier les variations de la composition microfloristique dans des échantillons distants de quelques mètres ou quelques décimètres, on porte son attention sur la répartition des micro-organismes dans des micro-échantillons de l'ordre du mm^3 ou moins, on constate que les cellules microbiennes ne sont pas dispersées régulièrement dans toute la masse du sol. Bien souvent, au contraire, elles sont groupées en amas (*microcolonies*) distribués de façon discontinue, séparés les uns des autres par des distances très variables ; on notera toutefois que certaines espèces bactériennes, qui ne sont pas associées à la phase solide, pourraient se trouver à l'état isolé dans les solutions du sol (ARISTOVSKAYA, 1963).

1° Mise en évidence de la discontinuité de la microdistribution

Pour étudier la microdistribution des micro-organismes dans le sol, on a fait appel à des méthodes directes (microscopie) et à des méthodes indirectes.

a) **Microscopie.** — La technique la plus simple est fondée sur l'emploi des lames de verre enfouies de CHOLODNY ; il s'agit de lames de verre imprégnées ou non d'un milieu nutritif gélosé que l'on presse sur une coupe de sol frais ou que l'on place dans le sol pendant plusieurs jours ou même plusieurs semaines ; ces lames sont ensuite retirées du sol, fixées, colorées et examinées au microscope (POCHON et TARDIEUX,

FIG. 128. — Coupe d'une cellule de pédoscope (GABE, 1961).



1962). On trouvera un exemple d'application de cette méthode dans le travail récent de WENT et de DE JONG (1966) sur la cellulolyse dans le sol.

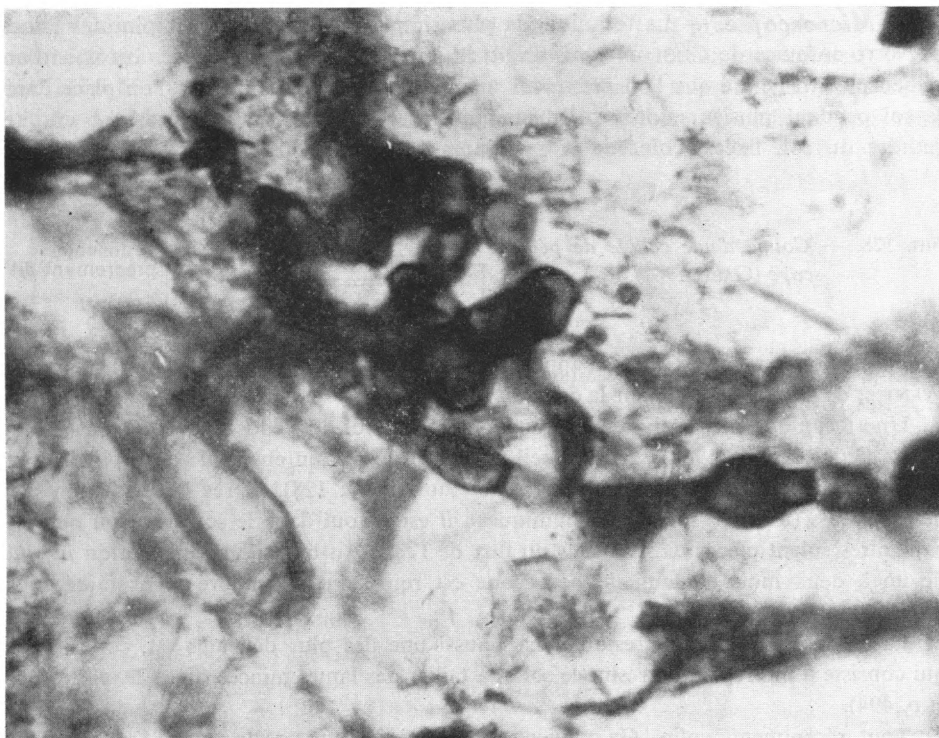
Une technique plus élaborée est fondée sur l'emploi du pédoscope de GABE (GABE, 1961 ; GRAY et coll., 1968). Cet appareil est constitué par un ensemble de capillaires en verre de $0,65 \times 0,20$ mm simulant des pores du sol (fig. 128). Après imprégnation par des substrats (tels que substances humiques), il est enfoui dans le sol de façon que les capillaires soient placés dans le sens du flux de l'eau. Au bout d'une incubation *in situ* de un à deux mois et demi, le pédoscope est retiré du sol, coloré et examiné sous microscope.

La méthode la plus intéressante mais aussi une des plus délicates est, certes, celle qui consiste à imprégner de résine le sol et à tailler des lames minces (fig. 129, ci-dessous et p. 494).

Tout récemment, enfin, GRAY vient d'introduire, dans ce domaine, l'usage de la microscopie électronique par balayage. Il est vraisemblable que cette technique fera progresser considérablement nos connaissances sur la microdistribution effective des micro-organismes dans le sol (fig. 130).



FIG. 129, A



B

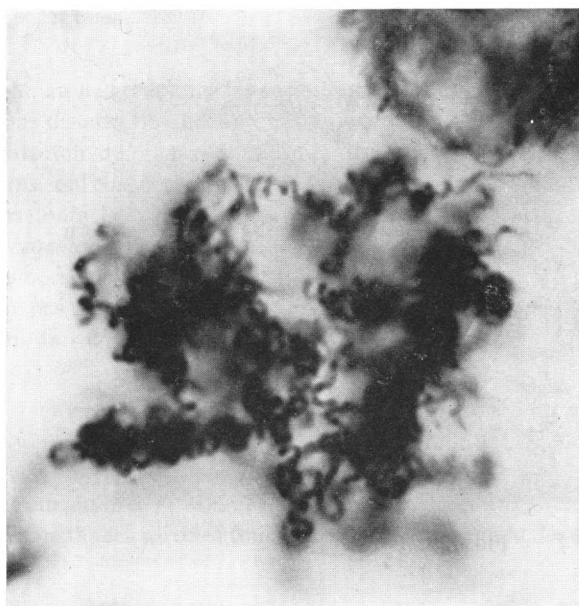


FIG. 129. — *Micro-organismes telluriques photographiés in situ dans les lames minces de sol* (JONES et GRIFFITHS, 1964). (A), Cellules de Levure, probablement *Lipomyces* sp. ; (B), Hyphes fongiques septées ; (C), Colonies d'Actinomycètes.

C

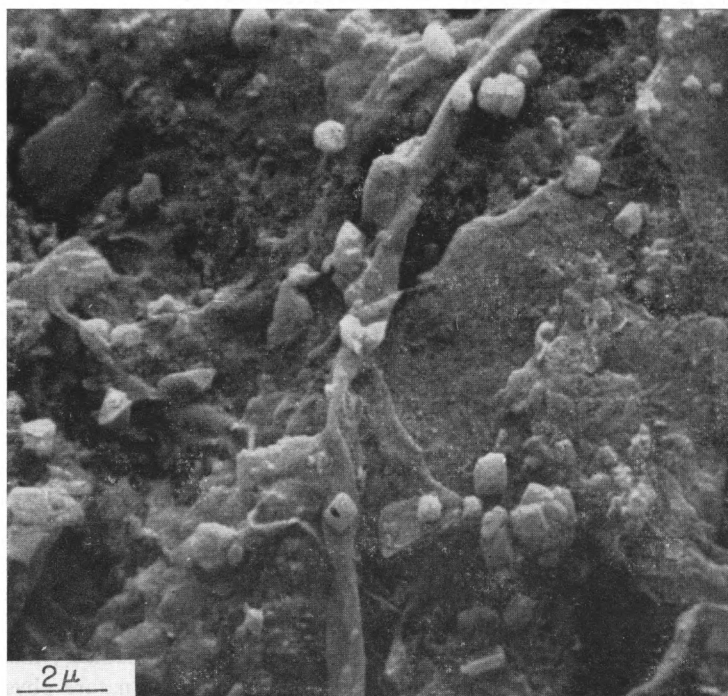
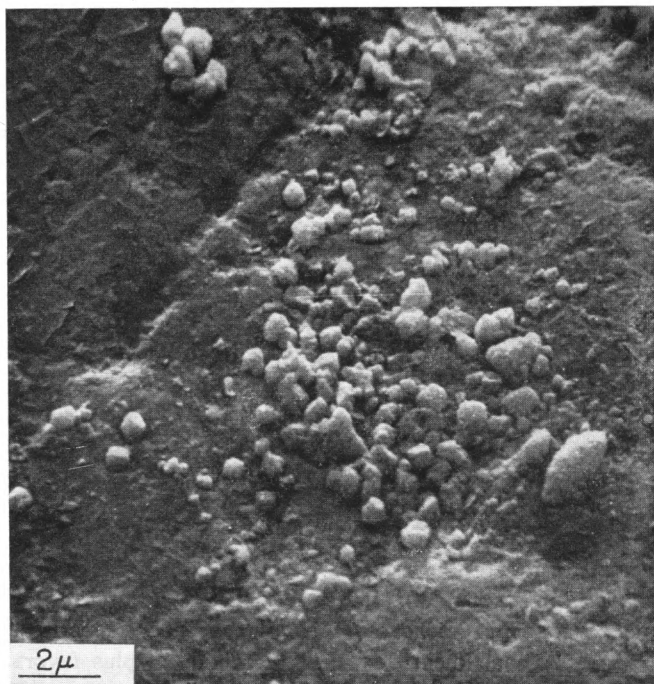


FIG. 130. — Exemples de microdistribution des micro-organismes telluriques (GRAY, 1967). En haut, colonies bactériennes sur un grain de sable ; en bas, mycélium associé à des Bactéries sur une particule d'humus en voie de décomposition (copyright 1967 by the American Association for the Advancement of Sciences).

b) **Méthodes indirectes.** — Elles ont confirmé les observations microscopiques. La plus simple d'entre elles a été appliquée, en particulier, à l'étude de la distribution de l'*Azotobacter* (KRASILNIKOV, 1958) ; elle consiste à fragmenter un échantillon de sol en micro-échantillons de l'ordre de quelques dizaines de milligrammes, appelés aussi grains de terre (POCHON et TARDIEUX, 1962), et à ensemercer un milieu solide pour *Azotobacter* avec ces grains que l'on dispose séparément. On constate que, sauf dans le cas des sols très riches en *Azotobacter*, tous les grains de terre ne donnent pas naissance à une colonie, ce qui prouve que les micro-organismes considérés ne sont pas distribués régulièrement.

Utilisant également le fractionnement du sol en micro-échantillons (de 200 mg chacun) SZABO et ses collaborateurs (1962) ont démontré l'irrégularité de la microdistribution des Actinomycètes et des Bactéries dans une rendzine forestière : en effet, dans chacun de ces micro-échantillons, le rapport Actinomycètes/Bactéries varie considérablement : il oscille entre des valeurs aussi différentes que 1/0,8 et 1/3,2.

La technique plus élaborée, qui consiste à séparer par lavage différentes fractions du sol — notamment les fractions organiques et minérales — montre que les particules organiques sont beaucoup plus riches en Champignons que les particules minérales ; les particules organiques constituent donc des microhabitats plus favorables au développement de la microflore fongique (WILLIAMS et coll., 1965).

2° Notion de microhabitat

L'hétérogénéité de la microdistribution des micro-organismes, dont nous venons de démontrer la réalité, ne peut s'expliquer que par l'existence dans le sol d'une mosaïque discontinue de microhabitats (microsites) qui diffèrent les uns des autres par le fait qu'ils sont plus ou moins favorables à l'activité microbienne (STANIER, 1953 ; GARRETT, 1955 ; THORNTON, 1956 ; BURGESS, 1958 ; KRASILNIKOV, 1958 ; TRIBE et WILLIAMS, 1967). L'on désigne parfois le *microhabitat favorable* à un organisme donné, sous le nom de *niche écologique* ; bien souvent, d'ailleurs, le terme de microhabitat est pris dans ce sens restreint de niche écologique. La discontinuité des microhabitats favorables dans le sol se conçoit fort bien si l'on admet que leur support matériel est essentiellement constitué par des substrats métabolisables ; en effet, l'on sait que ces substrats proviennent de résidus végétaux, de cadavres de micro-organismes ou d'exsorbats végétaux (dans la rhizosphère) ou microbiens (en particulier dans l'hyphosphère), qui sont eux-mêmes très irrégulièrement distribués dans le sol.

Comme le soulignent GRIFFITHS et JONES (1963), il faut cependant se garder d'identifier *microhabitat favorable* et *substrat énergétique*. On peut considérer qu'une fibre de cellulose ou un fragment de racine constituent, à eux seuls, un microhabitat favorable : ce sont, bien sûr, des éléments importants du microhabitat ; mais celui-ci est aussi le siège de l'intervention de multiples autres facteurs de nature physique (O_2 , CO_2 par exemple), chimique (éléments minéraux, pH par exemple) ou biologique (les micro-organismes qui se développent dans un microhabitat donné en changeant plus ou

moins rapidement certaines caractéristiques essentielles). On notera à ce propos que, dans beaucoup de microhabitats, l'activité biologique est limitée par la pénurie de phosphore ; c'est pourquoi l'adjonction au sol de phosphate naturel — *sans incorporation simultanée de substrat carboné* — stimule l'activité biologique globale, en diminuant la proportion des microhabitats carencés (TARDIEUX-ROCHE, 1966).

Les microhabitats favorables sont caractérisés par une extension généralement très limitée dans l'espace et dans le temps, qui rend très difficile leur étude par les méthodes dont on dispose actuellement. Aussi est-il souvent nécessaire d'installer au sein même du sol des microhabitats-modèles de grande dimension que l'on obtient en insérant, par exemple, des boulettes ou des disques de substrats sur lesquels il est plus facile de faire porter les observations microscopiques ou analytiques.

Parmi les différents types de microhabitats les mieux connus, on citera : le microhabitat rhizosphérique, le microhabitat constitué par l'agrégat, le microhabitat induit par les minéraux argileux qui sont étudiés par ailleurs.

3° Conséquences de l'existence de microhabitats dans le sol

Le cloisonnement du sol en une multitude de microhabitats donne à la microbiologie du sol une physionomie qui lui est propre et qui la différencie de la microbiologie des milieux homogènes, qu'ils soient solides, liquides ou gazeux. Nous avons déjà eu l'occasion de faire appel au concept de microhabitat pour expliquer certaines particularités des réactions biologiques au sein du sol ; mais il semble utile de revenir sur deux exemples typiques.

EXEMPLE 1. — La relative abondance des Bactéries et Actinomycètes neutrophiles et leur activité effective dans des sols acides peut s'expliquer seulement par le fait que ces micro-organismes se multiplient dans des microhabitats à un pH plus élevé que le pH moyen du sol mesuré sur l'échantillon de 5 à 20 g (pH apparent) (cf. p. 386).

EXEMPLE 2. — La dénitrification est théoriquement impossible dans des sols bien aérés car il s'agit d'un processus anaérobie inhibé par l'oxygène. Il se manifeste cependant avec une intensité non négligeable dans de tels sols car la partie centrale des agrégats constitue un microhabitat dépourvu d'oxygène où les micro-organismes dénitrificateurs trouvent des conditions très favorables à leur activité (cf. p. 481).

On notera enfin que, pour comprendre l'action de divers métabolites et notamment des antibiotiques dans le sol, il est indispensable d'invoquer la notion de microhabitat (p. 705).

CHAPITRE XI

LES TRAITEMENTS PESTICIDES

L'agriculteur moderne utilise de façon régulière de nombreuses substances destinées à éliminer les mauvaises herbes, les animaux nuisibles ou les Champignons parasites des cultures. Or ces substances atteignent toujours finalement le sol, soit qu'elles y soient introduites de façon intentionnelle, soit qu'elles y pénètrent lors du traitement des organes aériens ou plus tard par lessivage de ceux-ci.

Le sol fait parfois aussi l'objet de traitements désinfectants recourant à la chaleur ou, à titre expérimental, aux radiations ionisantes, et ces dernières interviennent encore accidentellement en diverses occasions.

La désinfection du sol par des méthodes physiques ou chimiques élimine une fraction plus ou moins importante de sa microflore et les régions partiellement « stérilisées » sont réoccupées peu à peu par de nouveaux coloniseurs.

Nous avons donc à envisager :

- A. Les traitements chimiques ;
- B. Les traitement physiques ;
- C. La recolonisation du sol.

A. — LES TRAITEMENTS CHIMIQUES

Ils consistent à répartir dans le sol, à doses convenables, des substances actives que nous classerons en trois catégories :

les herbicides ;

les insecticides ;

les désinfectants dirigés contre les micro-organismes pathogènes (fongicides et nématicides).

Les conséquences de ces traitements sont doubles.

Les substances actives ont pour but premier de détruire les organismes nuisibles, mais quelle que soit leur spécificité, elles exercent aussi des effets variables sur la microflore saprophyte et, en même temps, elles entraînent des modifications des propriétés physiques et chimiques du sol. Nous reviendrons sur ces dernières en étudiant les traitements physiques, avec qui elles sont plus marquées. Ces premiers effets constituent ensemble ce que DOMSCH (1964a) a appelé « effets passifs ».

Lorsque ces substances ont atteint le but désiré, elles doivent être éliminées pour éviter une *pollution* croissante du sol ainsi que des altérations trop durables et profondes de son équilibre biologique. Cette désintoxication du sol résulte, en partie, de la biodégradation des produits utilisés : ce sont des « effets actifs ».

Mais il faut noter que ces derniers peuvent aussi conditionner l'efficacité du traitement : l'exemple classique d'activation biologique est celui de la transformation du 4-(2,4-dichlorophénoxy) butyrate ou 4-(2,4 DB) en 2,4-dichlorophénoxyacétate ou 2,4-D, herbicide actif qui peut, dans une étape ultérieure, être dégradé et inactivé.

I. — LES EFFETS PASSIFS

1° Mise en évidence

— On peut étudier la toxicité des pesticides sur des micro-organismes en culture pure. C'est une méthode utilisée pour une première évaluation des activités fongicides, mais elle a l'inconvénient majeur d'être conduite dans des conditions tout à fait artificielles.

— On peut mesurer le CO_2 dégagé, le NH_4^+ ou le NO_3^- formés, le taux de décomposition de la cellulose dans le sol traité et dans un témoin non traité.

— On peut encore pratiquer sur le sol traité et le sol témoin les analyses microbiologiques habituelles : numérations de la flore totale, évaluation des groupes physiologiques, etc.

Mais les résultats obtenus ne sont pas identiques : en général, les méthodes chimiques (dosage de CO_2 par exemple) indiquent des actions toxiques plus marquées que les analyses microbiologiques qui séparent les organismes du sol et des inhibitions qui s'y produisent.

2° Conditions d'activité

Lorsqu'une substance active est introduite dans le sol, elle y exerce des effets variables suivant sa nature, mais aussi suivant son dosage et les conditions de l'environnement.

a) **Notion de dose.** — Elle fait intervenir les deux notions de concentration et de durée d'action. Comme la première diminue peu à peu à partir de l'instant de son application, l'effet biologique B est la sommation des produits de chaque concentration successive (c) par l'incrément de temps qui lui correspond (dt) affectée d'un facteur « sol » (K) dépendant de l'humidité, de la richesse en colloïdes, etc. (KREUTZER, 1963-1965).

$$B = K \int_0^t c \cdot dt$$

à condition que n'interfèrent pas de facteurs perturbants (perméabilité cellulaire, par exemple).

b) **Doses létales.** — Pour mesurer l'efficacité d'un agent létal, quelle que soit sa nature, il est commode d'utiliser l'une ou l'autre des unités suivantes :

- la DL 50, c'est-à-dire la dose nécessaire pour tuer 50 % des individus composant une population ;
- la dose létale proprement dite, qui assure la mort de la population entière.

La DL 50 peut être déterminée plus facilement et avec plus de précision que la dose létale, mais cette dernière présente un grand intérêt sur le plan pratique.

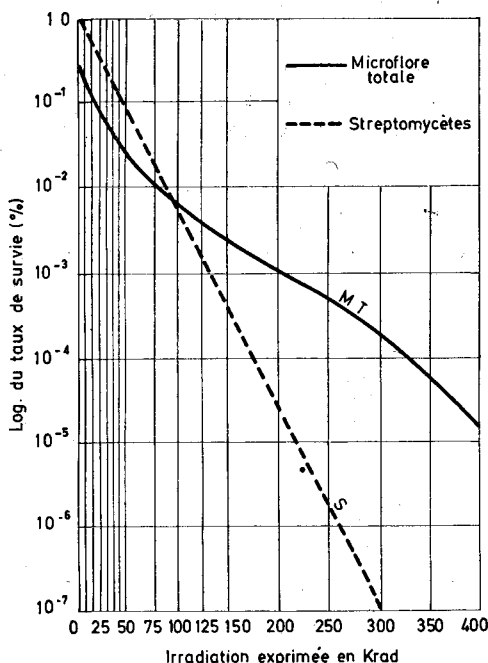


FIG. 131. — Effet de l'irradiation γ sur la microflore totale et sur un secteur de cette microflore constitué par les *Streptomyces* (DAVIS et coll., 1956). MT, Microflore totale dénombrée sur milieu à l'extrait de terre ; S, *Streptomyces* dénombrés sur milieu de Jensen.

Tout agent létal, quel qu'il soit (radiations, chaleur, antiseptique), entraîne une diminution exponentielle du nombre des cellules vivantes suivant la relation :

$$\frac{N}{N_0} = e^{-KD}$$

où N/N_0 est la fraction de la population qui survit à la dose D et où K est une constante dépendant de l'agent létal, des conditions de son application, des caractères du milieu, de la sensibilité de la population.

Mais une telle loi n'est valable que dans le cas d'une population homogène ; elle perd son caractère exponentiel sous l'influence de différents facteurs et, en particulier, dans le cas où le peuplement est hétérogène (DAVIS et coll., 1956 ; McLAREN et coll., 1962) (fig. 131).

c) **Modalités d'action.** — Du point de vue de leur action, on reconnaît :

— des poisons généraux qui sont aussi, souvent, des biocides, c'est-à-dire qu'ils tuent plus ou moins vite des organismes plus ou moins divers ;

— des poisons spécifiques qui sont généralement biostatiques, c'est-à-dire qu'ils inhibent la croissance d'un nombre plus ou moins limité d'organismes.

Mais il n'y a pas de limite tranchée entre ces deux catégories : certains poisons généraux sont biostatiques et inversement des poisons spécifiques sont biocides. En outre, la dose peut modifier les caractéristiques d'un produit ; si elle est faible, un biocide se comporte en biostatique et, si elle est assez élevée, un poison spécifique peut devenir général ou biocide.

Aussi la toxicité intrinsèque d'une substance n'a-t-elle de signification que si elle est déterminée dans les conditions normales de son utilisation.

d) **L'efficacité du traitement** est sous la dépendance de nombreux facteurs que GORING a passés en revue (1967).

La température accroît généralement l'activité du produit mais accélère aussi sa décomposition ou sa volatilisation dans le cas des substances à tension de vapeur élevée (fumigants) ou transformées dans le sol en produits volatils diffusibles.

L'humidité est souvent nécessaire à l'activité des substances pesticides : par exemple, les microscélérotés de *Verticillium* sont 100 fois moins sensibles au chlorobromopropène dans un sol sec (10 % de la capacité au champ) que dans un sol humide (70 %).

Les argiles adsorbent plus ou moins les molécules actives suivant la structure des premières et leur état d'hydratation et suivant la présence ou l'absence chez les secondes de certains groupements fonctionnels ainsi que selon leur caractère polaire ou non. La matière organique peut également réagir avec les principes actifs. Or, évidemment, la liaison des pesticides aux colloïdes aboutit à diminuer leur concentration effective.

Nous ne pouvons nous appesantir sur ces problèmes qu'il fallait cependant évoquer car ils rendent compte de l'extrême diversité des résultats enregistrés suivant les sols, les microclimats, les modes d'application.

3° Nature des effets passifs

Directement, ils peuvent consister en inhibitions concernant certains groupes physiologiques ou systématiques.

Dans la mesure où les généralisations sont possibles, les Champignons, et surtout les parasites, sont plus sensibles que les Actinomycètes, et les Bactéries sont les plus tolérantes. Cependant pour KREUTZER (1965) les Actinomycètes sont le groupe le plus résistant. A vrai dire, des constatations aussi vagues risquent de faire oublier la sélectivité des traitements au niveau spécifique.

Parmi les groupes physiologiques, la nitrification est la plus affectée. Elle est sensible au dinitrocrésol, au CS_2 et autres désinfectants généraux, à certaines triazines, peut-être même à quelques fongicides spécifiques. Avec le chlorate et certaines urées substituées, des nitrites s'accumulent par suite de la sensibilité supérieure des Bactéries nitriques.

On a signalé l'inhibition des *Azotobacter* (phénylurées, chloropicrine) ou de la nodulation chez les Légumineuses (phénoxyalcanoates, triazines, DDT, HCH, thirame, captane), mais la résistance des *Rhizobium* aux herbicides est très variable suivant les souches.

Quant aux Algues, elles ont été moins étudiées : pour ISHIZAWA et MATSUGUCHI (1966), elles sont sensibles au pentachlorophénol et à l'HCH. Ce dernier les protégerait au contraire contre les animaux consommateurs (RAGHU et MACRAE, 1967).

Il importe, en tout cas, de retenir que les effets passifs sont très variables suivant les conditions du milieu et que les données contradictoires sont fréquentes.

4° Influence des pesticides

Ces effets passifs divers interfèrent entre eux et avec les effets actifs pour déterminer l'influence exercée sur la microflore par chaque substance active. Nous nous limiterons à des indications générales, renvoyant le lecteur à la mise au point de DOMSCH (1963) pour les détails concernant les différents produits.

a) **Les herbicides.** — Ils sont utilisés habituellement à des concentrations très faibles, de l'ordre de quelques ppm, pour lesquelles aucune action ne se manifeste vis-à-vis de la microflore tellurique : son importance numérique n'est pas diminuée, pas plus que l'activité des groupes physiologiques, même les plus fragiles. Des inhibitions ne commencent à se manifester, dans la nature, que pour des concentrations en principe actif 50 à 100 fois plus fortes que la normale.

Il y a cependant des exceptions à cette règle : nous venons de citer le cas de sensibilité des *Rhizobium* à certains herbicides.

Les s-triazines présentent, *in vitro*, une toxicité rapidement croissante avec la concentration et certains dérivés peuvent même inhiber la microflore totale (SZABO, 1964). En fait la sensibilité des Bactéries à l'égard de ces substances varie selon les souches.

Les produits courants sont, par contre, jugés inoffensifs dans les conditions naturelles (PANTOS et coll., 1964) ; mais les caractères du sol, en particulier sa teneur en matière organique, son mode d'exploitation, etc. influent sur les résultats observés : ainsi la simazine n'est plus inhibitrice dans les sols riches en matière organique et, combinée au labour, elle devient stimulante (NEPOMILUEV et coll., 1966).

b) Les insecticides. — Ils sont utilisés à doses un peu plus élevées que les herbicides et pourtant, dans la plupart des cas, leur emploi n'a aucun effet dépressif sur la microflore des sols. Il faut en appliquer des doses 20 à 200 fois supérieures aux quantités utiles pour que des inhibitions se manifestent. Il existe encore une fois des exceptions à cette règle, mais elles sont rares.

Même la nitrification n'est pas modifiée sur limon par aldrine, heptachlore et chlordane ; ces produits et le DDT la stimulent sur sol plus léger (SHAW et ROBINSON, 1960).

c) Les désinfectants. — Nous y distinguerons les deux groupes définis plus haut :

— *désinfectants généraux*, souvent biocides et volatils, à champ d'action large : CS_2 , formol, bromure de méthyle, chloropicrine, alcool allylique, hydrocarbures halogénés nématicides, certains fongicides conçus spécialement pour le traitement du sol : DMTD parent volatil du thirame, métam-sodium ou vapam, mylone et le produit actif de dégradation de ces deux derniers, le méthylisothiocyanate (MIT).

— *désinfectants spécifiques*, souvent biostatiques et fixes, d'action fongicide : thirame, captane, dithiocarbamates, organomercuriques.

Les désinfectants généraux, du fait de leur toxicité élevée, ont une action initiale dépressive sur la microflore du sol, créant ainsi ce que l'on a appelé un « vide biologique » (KREUTZER, 1965). En même temps, de nouveaux substrats apparaissent, constitués par les cadavres de la population édaphique. Ainsi peut se développer un écosystème de niveau biotique plus élevé que le système initial (fig. 132).

Les fongicides, biostatiques plutôt que biocides, peu volatils en général et dont l'efficacité est liée à la persistance ont des effets variables suivant leur spécificité. Quand celle-ci est relativement large, leur action rappelle celle des désinfectants généraux (cas des organomercuriques) ; les dithiocarbamates, thirame, captane ont un effet dépressif faible sur les Bactéries. Enfin les produits étroitement spécifiques tels que les composés aromatiques halogénés (par exemple, le PCNB) perturbent peu l'équilibre biologique. On trouvera (fig. 133) une illustration de ces différents effets : en respirométrie,

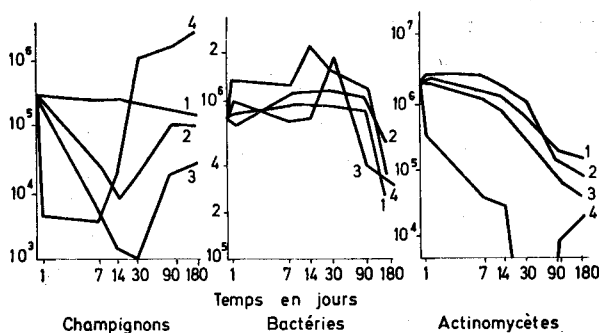
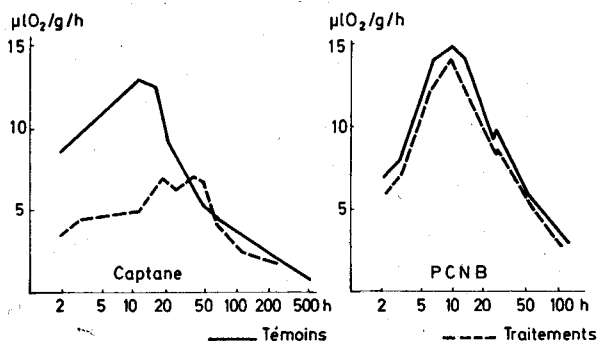


FIG. 132. — Influence de quelques fongicides sur la densité des populations d'un sol. 1, témoin ; 2, Métam-Na ; 3, Mylone ; 4, Métasol (organo-Hg) (CORDEN et YOUNG, 1965).

le captane comme un antiseptique général diminue la consommation d' O_2 , le PCNB ne la modifie pas sensiblement (DOMSCH, 1964b).

Mais ici encore les caractères du sol influent sur les résultats du traitement. L'effet dépressif initial exercé par le captane sur la respiration du sol est d'autant plus réduit que la microflore dispose d'aliments plus labiles (DOMSCH, 1965).

FIG. 133. — Influence du captane (50 ppm) et du pentachloronitrobenzène (PCNB, 500 ppm) sur la consommation d'oxygène d'un sol (DOMSCH, 1964b).



II. — LES EFFETS ACTIFS

1° Mise en évidence

On peut étudier la dégradation d'un pesticide dans le sol de différentes manières.

a) Le produit est extrait du sol après des temps croissants et dosé par voie chimique ; ceci exige le recours à des méthodes extrêmement sensibles et spécifiques (chromatographie et chromatographie en phase gazeuse).

b) On étudie la diminution de son activité en utilisant un organisme test.

Mais ces deux méthodes ne permettent pas de savoir si le produit est décomposé ou non : il peut en effet être demeuré intact mais avoir été adsorbé et inactivé ou bien il peut avoir été détruit avec production de fragments actifs.

c) On peut rechercher les produits de sa décomposition : le $^{14}\text{CO}_2$ dégagé à partir d'un pesticide marqué ; le Cl libéré à partir des hydrocarbures halogénés. Dans le cas des composés aromatiques, WHITESIDE et ALEXANDER (voir ALEXANDER, 1965) mesurent le clivage des noyaux benzéniques par les changements intervenant dans les spectres UV de cultures sur milieu liquide.

Toutes les méthodes précédentes ne permettent pas, à elles seules, de savoir si, dans la nature, les phénomènes observés ont ou non une origine biologique.

d) On peut penser à une biodégradation quand les transformations sont ralenties après autoclavage du sol ou addition d'antiseptiques généraux tels que les carbamates ou l'azoture de sodium.

e) On confirmera cette hypothèse si l'on réussit, par des méthodes d'enrichissement, à isoler des souches capables d'utiliser *in vitro* le pesticide étudié comme source de C, d'N ou de P.

2° Molécules « récalcitrantes »

On a longtemps admis comme un axiome qu'aucune molécule organique n'était à l'abri de la biodégradation, aucune n'a une persistance illimitée, sinon elle se serait accumulée à la surface du globe. C'est dans ce sens que l'on a parlé de l'« infailibilité » des micro-organismes. Mais un tel raisonnement, valable pour les produits naturels, ne s'applique pas nécessairement à des composés synthétiques possédant des structures inconnues dans la nature : les détergents à chaînes ramifiées, par exemple, ne sont pas biodégradables de sorte que les microflore sont, en réalité, faillibles (ALEXANDER, 1965c).

Certains pesticides font preuve d'une rémanence extrêmement longue, aussi bien en sol normal que stérilisé et peuvent être considérés comme « récalcitrants ». Cependant GORING (1967) croit que leur destruction fait quand même intervenir, le plus souvent, des actions biologiques : les composés labiles sont utilisables par les micro-organismes comme sources d'énergie, les autres ne semblent pas l'être mais sont décomposés, avec un rendement infime, grâce aux innombrables réactions enzymatiques assurées par la microflore et KREUTZER (1965) reste un partisan résolu de l'infailibilité.

3° Rémanence des pesticides

Si la vitesse de disparition d'un pesticide est assez faible pour ne pas compenser l'importance des apports, le produit tend à s'accumuler et risque d'atteindre une concentration nuisible en raison de :

— son action sur l'équilibre biologique du sol :

TABLEAU LXXIII. — RÉMANENCE DES INSECTICIDES CHLORÉS
DANS UN SOL DE LIMON SABLEUX
(d'après NASH et WOOLSON, 1967)

NATURE DU PRODUIT	DURÉE DE L'EXPÉRIENCE (années)	% RÉMANENT EN FIN D'EXPÉRIENCE	DURÉE DE 1/2 RÉMANENCE (années)
Aldrine technique	14	40	9
Aldrine purifiée	15	28	5
Dieldrine technique	15	31	7
Chlordane	14	40	8
Heptachlore	14	16	2 à 4
HCH	14	10	2
Toxaphène	14	45	11
DDT	17	39	2,5 à 35

— sa toxicité pour les végétaux supérieurs, un herbicide rémanent pouvant empêcher la culture de plantes qui lui sont sensibles ;

— l'absorption éventuelle du principe actif par les récoltes, ce qui entraîne un risque d'intoxication du consommateur ou, au moins, d'altération de la saveur des aliments.

La disparition d'un pesticide ne doit pas reposer seulement sur des actions physiques, lessivage ou volatilisation, dont l'effet est de transférer la pollution du sol aux nappes et aux cours d'eau ou à l'atmosphère. Elle doit comporter une destruction de la molécule conduisant à des fragments inactifs et non rémanents.

NASH et WOOLSON (1967) exposent les résultats d'essais prolongés, conduits dans des conditions particulièrement peu favorables à l'élimination des insecticides chlorés, de sorte que leurs chiffres représentent sans doute des maximums et sont d'ailleurs plus

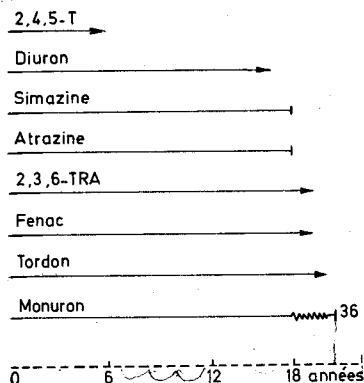


FIG. 134. — Persistance dans le sol de divers herbicides
(ALEXANDER, 1965a).

élevés que ceux rapportés par EDWARDS (1964). La disparition de ces produits suit généralement une progression géométrique, indépendante du dosage, ce qui permet de définir une durée de demi-rémanence, c'est-à-dire le temps nécessaire à la destruction de 50 % du produit (tableau LXXIII). Seul parmi les substances étudiées, le DDT est éliminé plus lentement aux fortes concentrations.

La figure 134 empruntée à ALEXANDER (1965c) montre que certains herbicides ont une persistance au moins aussi élevée.

4° Facteurs physiques et chimiques

L'élimination des pesticides peut se faire par volatilisation dans le cas des désinfectants généraux ou même de substances à tension de vapeur faible mais déposées à la surface du sol (triazines ; urées substituées).

Elle peut résulter de réactions photochimiques, du lessivage dans les sols légers, de l'absorption par les végétaux supérieurs.

Leur destruction peut être assurée par des mécanismes chimiques qui sont probablement des hydrolyses (fumigants, triazines, dithiocarbamates, esters phosphoriques) ou des réactions de substitution nucléophile par les groupements actifs de la matière organique (chloropicrine, PCNB, captane).

Elle peut être aussi biologique et alors elle dépend de différents facteurs :

— l'adsorption sur les argiles protège les substances actives contre la dégradation (BAILEY et WHITE, 1964) ;

— les matières organiques peuvent avoir, elles aussi, un effet protecteur, mais conditionnent, le cas échéant, la décomposition par transfert nucléophile. Elles interviennent encore en influant sur les activités biologiques du sol : plus celles-ci sont intenses, plus la dégradation des pesticides a de chances d'être rapide ;

— une température relativement élevée accélère les réactions de décomposition chimiques et biologiques ;

— l'humidité a des effets variables suivant que le principe actif est plus ou moins adsorbable.

5° Influence de la structure chimique

Elle a surtout été étudiée dans le cas des herbicides de la série des phénoxyalcanoates et, par extension, chez les acides benzoïques et les phénols chlorés (MACRAE et ALEXANDER, 1965 ; ALEXANDER, 1965c).

On savait depuis longtemps que le 2,4,5-trichlorophénoxyacétate (2,4,5-T) possédait une rémanence très supérieure à celle du 2,4-dichlorophénoxyacétate (2,4-D) (fig. 135). Le dérivé propionique [2-(2,4-dichlorophénoxy) propionate] est lui aussi beaucoup plus résistant. Enfin chez les chlorophénols, les composés substitués sur les carbones 3 ou 5, c'est-à-dire en méta de la fonction phénol, sont pratiquement inattaqués.

Tout ceci semble prouver que la récalcitrance est déterminée :

- par le mode de liaison entre le noyau et la chaîne latérale (liaison en α de cette dernière) ;
- par le nombre et surtout la position de l'halogène sur le noyau (fig. 136).

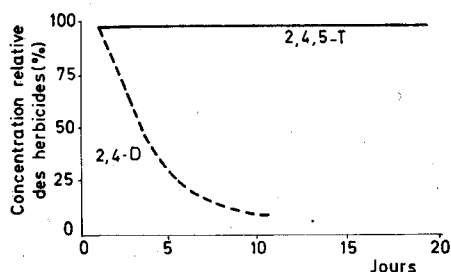


FIG. 135. — Décomposition microbienne de 2,4-D et 2,4,5-T dans les suspensions de sol (ALEXANDER, 1961).

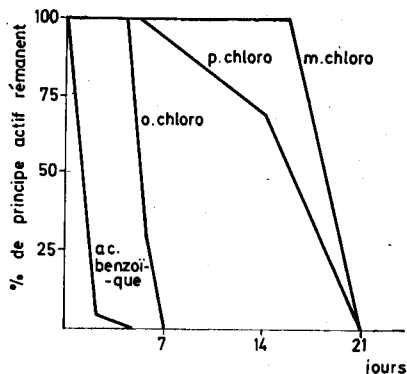
Dans la série des chlorobenzoates, au contraire, la résistance diminue dans l'ordre méta > para > ortho (fig. 137), mais le nombre des substituants semble avoir plus d'importance. Ainsi tous les acides monochlorés sont détruits en moins de trois semaines, les composés di-, tri-, ou tétrahalogénés ne le sont pas encore à 60 jours.

-CH ₂ COOH	27	27	> 103	103
-(CH ₂) ₃ COOH	27	27	> 103	103
-CH(COOH) CH ₃	27	> 103	> 103	> 103
-CH(COOH) CH ₂ CH ₃	—	> 103	> 103	> 103

FIG. 136. — Influence de la structure chimique sur la persistance dans les sols des herbicides de la série des phénoxyalcanoates (selon ALEXANDER, 1965a). Les données sont exprimées en jours et correspondent à la disparition totale de la substance active.

On comprend combien il serait intéressant de connaître les points d'attaque possibles pour chaque type de molécule et les substitutions capables de les protéger. On pourrait obtenir ainsi des produits dont la rémanence correspondrait aux nécessités de leur action sans pour autant conduire à une accumulation dangereuse.

FIG. 137. — Décomposition des acides benzoïques et monochlorobenzoïques dans des suspensions de sol (MACRAE et ALEXANDER, 1965).



6° Adaptation

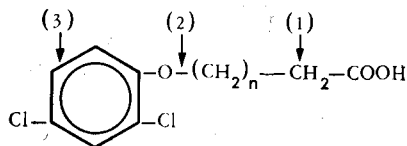
On a constaté que les traitements pesticides provoquaient une augmentation, dans la microflore, du nombre des souches capables de dégrader le principe actif utilisé ; par exemple, la décomposition du DDT dans une rizière est plus rapide lors d'une seconde application qu'après la première (RAGHU et MACRAE, 1966).

On pourrait donc espérer une désintoxication plus rapide des sols, si ces derniers étaient au préalable traités par des produits non toxiques, de structure moléculaire voisine de celle des pesticides, ou bien si l'on réussissait à y acclimater des souches sélectionnées capables de dégrader le produit que l'on désire éliminer. Mais les premiers essais de désintoxication biologique sont loin d'être satisfaisants (MACRAE et ALEXANDER, 1965).

7° Mécanismes de la biodégradation

a) **Les herbicides** sont le groupe le mieux connu de ce point de vue (KEARNEY et coll., 1967).

Les acides phénoxyalcanoïques sont inégalement labiles suivant leur structure et leur attaque peut se faire en différents points :



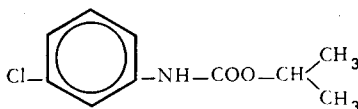
Les réactions classiques de β -oxydation (1) qui conduisent au raccourcissement de la chaîne latérale n'inactivent pas le produit et peuvent même conditionner son activité : nous avons déjà appris que la coupure de la chaîne en C_4 du 4-(2,4-DB) pour donner

une chaîne acétate en C_2 était nécessaire à l'efficacité du traitement. Des transformations de ce type sont assurées par *Nocardia opaca*, *Pseudomonas*, *Micrococcus*.

Certains *Flavobacterium* et *Arthrobacter* coupent la liaison éther (2) avec inactivation et formation de phénols chlorés.

Quant aux possibilités d'ouverture du cycle (3), elles sont mal connues.

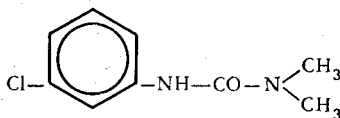
Les phénylcarbammates sont eux aussi inégalement biodégradables.



CIPC = Isopropyl N (3-chlorophényl) carbamate.

Le CIPC, par exemple, est attaqué par diverses Bactéries en culture pure (*Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Achromobacter*, etc.) avec formation de 3-chloroaniline toxique qui est sans doute détruite au fur et à mesure de son apparition.

Les phénylurées sont fortement adsorbées et leur dégradation est fonction de leur désorption. Elle est probablement en partie biologique et le monuron est utilisé comme source de C par *Xanthomonas*, *Sarcina*, *Bacillus* et des Champignons Aspergillacées. Le linuron est, lui aussi, labile et attaqué par de nombreux micro-organismes (BÖRNER, 1967).



Monuron

Les acides aliphatiques halogénés (dalapon, TCA) libèrent du chlore en présence de divers Bactéries, Champignons et Actinomycètes avec formation des acides alcools, acides cétones ou diacides correspondants (JENSEN, 1963a). Ces derniers peuvent être métabolisés mais les deux processus ne sont pas liés : les acides sont parfois utilisés sans libération de chlore et, inversement, le produit déshalogéné n'est pas toujours utilisable. Suivant la composition de la microflore, le dalapon peut disparaître en deux semaines ou, au contraire, subsister en partie après deux mois.

Parmi les herbicides probablement dégradés, on citera encore l'endothal, l'amitrole, peut-être la trifluraline et la diphénamide.

Le comportement des triazines est plus discuté. On considère en général que la dégradation en est essentiellement chimique et souvent limitée au remplacement du chlore par un hydroxyle. Cependant divers Champignons pourraient utiliser les chaînes latérales ; l'hétérocycle azoté semble très stable bien que sa décomposition soit probable dans le cas de l'ipazine. CHARPENTIER et POCHON (1962), GYURKO et ses collabo-

rateurs (1964) ont isolé des Bactéries, Actinomycètes et Champignons qui se développent sur des milieux contenant de la simazine comme seule source de C et d'N. Mais leur croissance est alors très médiocre et comme ils sont peu nombreux dans les sols, on est en droit de se demander si leur rôle est appréciable dans la nature.

b) Les insecticides. — Leur dégradation par voie biologique a été moins étudiée et leur élimination semble reposer principalement sur des phénomènes de volatilisation ou d'oxydation chimique. Quant à la biodégradation, elle n'est pas à exclure mais son importance dans la nature est mal connue.

Elle intervient probablement dans le cas des esters phosphoriques puisque la disparition du parathion ou du trithion est plus lente en sol stérile ou traité par le métam-sodium. En outre le pestox est utilisable par divers Champignons, hormis les Phycomycètes, comme source de P en milieu carencé en cet élément.

La participation des micro-organismes à la destruction des dérivés chlorés est plus incertaine et semble partielle. L'aldrine est lentement oxydée en dieldrine qui paraît biologiquement très stable et cette transformation est plus rapide en sol normal et humide qu'en sol autoclavé ou sec. En outre JÖNSSON et FÄHREUS (1960) ont obtenu des souches bactériennes utilisant l'aldrine comme seule source de C.

CHACKO et ses collaborateurs (1966) ont isolé quelques Actinomycètes provoquant l'altération du DDT en dérivé dichloré (DDD). En anaérobiose (rizières), le DDT — ^{14}C se transforme assez vite en composés hydrosolubles sans dégagement de $^{14}\text{CO}_2$ (GUENZI et BEARD, 1967).

c) Les désinfectants. — Les désinfectants généraux sont éliminés rapidement par volatilisation ou détruits par voie chimique et biologique. Dans ce dernier cas, interviennent des micro-organismes banaux (*Pseudomonas*, *Nocardia*, *Trichoderma*) mais aussi, dans le cas de l'alcool allylique, des *Azotobacter*.

Parmi les organomercuriques, il en est de résistants (hydroxyde ou iodure de méthyle-Hg), d'autres sont rapidement dégradés soit par des Aspergillacées, soit par des *Bacillus* (SPANIS et coll., 1962).

Parmi les fongicides, la dégradation du thirame est très probablement biologique et le PCNB est dégradé *in vitro* par certains Champignons imparfaits et Ascomycètes et par des *Streptomyces* avec formation de pentachloroaniline (CHACKO et coll., 1966).

Nous venons d'entrevoir certains exemples de biodégradation des pesticides et nous nous abstenons de les multiplier car, si l'on met à part quelques herbicides, aucune conclusion générale ne se dégage des résultats fragmentaires dont nous disposons. Or, au fur et à mesure que les études progressent, de nouvelles substances actives sont mises au point et rejettent dans l'ombre les produits les mieux connus.

B. — LES TRAITEMENTS PHYSIQUES

On peut les réunir dans deux catégories principales :

- A. Les traitements par la chaleur ;
- B. L'irradiation.

I. — LES TRAITEMENTS PAR LA CHALEUR

Dans la pratique agricole, ils sont limités à l'emploi de la chaleur humide, c'est-à-dire à l'injection dans le sol d'un volume suffisant de vapeur d'eau ou, mieux, d'un mélange d'air et de vapeur de manière à porter la température de ce sol à une valeur suffisante : 80 à 100 °C avec la vapeur, 60° environ avec la vapeur aérée.

Les traitements éliminent les Champignons parasites, les animaux nuisibles, voire même les semences des mauvaises herbes, sans jamais atteindre une stérilisation complète et d'ailleurs indésirable.

Ces méthodes très coûteuses ne sont concevables que pour de petites surfaces ou des cultures assez rémunératrices.

Le sol traité par la vapeur est saturé d'eau pendant quelque temps et présente des altérations physiques mais surtout chimiques au point de devenir parfois impropre à la culture, au moins temporairement, comme s'il était intoxiqué. On y remédie par des arrosages abondants pour lessiver des toxines éventuelles ou par un repos de quelques semaines. Le sol traité devient alors stimulant.

La chaleur sèche n'est guère utilisable en raison des altérations graves qu'elle provoque dans le sol. Mais elle intervient superficiellement lors des feux où la terre peut atteindre, en surface entre 200 et plus de 400 °C suivant la violence de l'incendie.

II. — L'IRRADIATION

Le sol possède naturellement une légère radioactivité ; il est soumis parfois aux effets de radiations émises lors des explosions nucléaires ; il en reçoit les retombées ; il pourrait servir à entreposer les déchets industriels radioactifs. Le problème de l'effet des radiations présente donc un intérêt économique et scientifique certain. De plus, on a essayé, sur le plan expérimental, d'obtenir des sols stériles et aussi peu altérés que possible en les soumettant à des rayonnements de haute énergie.

Les divers rayonnements dont nous avons à nous préoccuper sont, outre les UV :

- les rayons X et le rayonnement γ . Ils mettent en œuvre des photons et sont de nature ondulatoire ;
- le rayonnement α correspondant à l'émission de noyaux d'hélium ;
- le rayonnement β correspondant à l'émission d'électrons négatifs ;
- des émissions de neutrons.

« Au point de vue des modifications apportées dans le milieu irradié, ce qui compte est surtout l'énergie absorbée ou dose absorbée, que celle-ci soit due à une particule très énergétique cédant une faible fraction de son énergie totale, ou à une particule de faible énergie mais la cédant entièrement. » (LEFORT, 1959).

1° *Les rayons X, γ et les rayons β moyens ionisent la matière.* Sous leur action un électron est expulsé d'une molécule et est capté par une autre faisant ainsi apparaître des ions hautement réactifs. Les dommages causés aux tissus vivants sont provoqués essentiellement par les ions OH^- et H^+ résultant de la dissociation de l'eau.

L'unité de dose la plus utilisée est le *rad*, ou dose absorbée par la matière irradiée avec libération, par ionisation, d'une quantité d'énergie égale à 100 ergs par gramme de matière. On se sert également du roentgen (R), dose qui, dans 1 ml de tissus vivants, correspond sensiblement au rad, tout en étant légèrement inférieure.

2° *Les autres rayonnements agissent physiologiquement dans des conditions très différentes :* étant neutres, ils ne provoquent aucune ionisation directe, mais ils chassent des noyaux (principalement d'hydrogène) de leur position dans les cellules et des ruptures de molécules s'ajoutent aux effets d'ionisation produits par les noyaux mis en mouvement. Ceci se traduit par des dégâts supérieurs à ceux que l'on pourrait attendre de la seule ionisation. On a défini pour ces radiations une nouvelle unité, le *rem* (« roentgen equivalent mammals ») ou dose de rayonnement dont l'absorption produit les mêmes dégâts physiologiques que l'absorption de 1 rad. La vitesse à laquelle se produit l'irradiation se mesure en rems/seconde ou rems/heure.

Les unités de dose ont été définies ci-dessus indépendamment de leur origine (radioactivité, fonctionnement de réacteurs, etc.). Par contre, si l'on s'intéresse aux corps radioactifs eux-mêmes, on est appelé à utiliser l'unité de radioactivité appelée *curie* ou « quantité de matière radioactive qui subit $3,7 \times 10^{10}$ désintégrations par seconde ».

III. — EFFETS DES TRAITEMENTS PHYSIQUES SUR LES CARACTÉRISTIQUES PHYSIQUES ET CHIMIQUES DU SOL

Tout traitement désinfectant, qu'il soit chimique (formol, bromure de méthyle, etc.), thermique (vapeur, autoclavage ou chaleur sèche), ou par irradiation exerce une influence plus ou moins marquée sur les propriétés physiques et chimiques du sol et sur

son activité biologique. Faut-il rappeler ici que la simple dessiccation, l'alternance de gel et de dégel, suffisent même à modifier l'équilibre des formes d'N et l'intensité respiratoire du sol.

1° Les effets physiques

Ils sont assez mal connus et les données bibliographiques sont discordantes.

On a signalé le cas de certains sols calcaires qui, après traitement à la vapeur, deviennent durs comme du mortier.

Plus souvent les altérations sont faibles et se font en sens divers. Sauf exception, la structure est peu modifiée. La perméabilité augmente ou diminue ; la capacité de rétention s'accroît parfois (BOWEN et CAWSE, 1964). Même la stérilisation à l'oxyde d'éthylène provoque des altérations, moins graves sans doute que celles occasionnées par l'autoclavage, mais qui ne peuvent être entièrement attribuées à l'effet de la température à laquelle le traitement s'effectue (ADAMS, 1966).

Les feux enfin ont parfois un effet bénéfique et sont des pratiques normales de mise en valeur dans le cas de certaines tourbes (Madagascar : DIDIER DE SAINT-AMAND, 1967) ou de sols asphyxiants où la « cuisson » des argiles améliore la structure (Abysinie : WEHRMANN, 1967).

2° Les effets chimiques

Les principaux effets chimiques sont :

a) *Une libération massive d' NH_3* , surtout marquée dans les sols riches en matière organique. De plus l'N minéralisable selon DROUINEAU augmente dans des proportions encore plus grandes (SIMON-SYLVESTRE, 1967).

b) *Une élévation du taux de Mn soluble ou échangeable*, tout au moins en sol acide où des niveaux toxiques peuvent être atteints (BOWEN et CAWSE, 1962).

Les autres constituants inorganiques du sol sont peu modifiés ou ne le sont pas du tout : Fe, Zn, N- NO_3 , Ca, Mg. Parfois cependant le traitement à la vapeur augmente un peu le P assimilable, les sulfates solubles, l'Al extractible, le Cu, le K.

L'irradiation à doses élevées et surtout le chauffage accroissent le taux de C organique soluble, en particulier celui des glucides (SALONIUS et coll., 1967).

Les caractéristiques du sol, sa teneur en matière organique, son humidité ont une influence considérable sur les effets observés. Ainsi une tourbe irradiée contient 20 fois plus d' NH_3 qu'un sol normal ayant reçu la même dose de rayons (ENO et POPENOE, 1963). L'autoclavage d'un sol sec libère peu d' NH_3 , moins que son irradiation. C'est l'inverse si le sol est humide (SALONIUS et coll., 1967 ; GREENWOOD, 1966) et les quantités d' NH_3 formé sont alors beaucoup plus importantes après chauffage.

c) *Origine de l' NH_3* . — On sait que sa source principale est la microflore détruite par le traitement et dont les cadavres sont soumis à l'ammonification sous l'action des

survivants, par exemple des Bactéries sporulées, peut-être aussi sous l'influence des enzymes qui résistent plus ou moins aux traitements chimiques et à l'irradiation. Cette dernière est en outre capable de désamincer les composés protidiques : elle peut fragmenter les grosses molécules organiques et accroître le taux des acides fulviques mais non déplacer l' NH_3 des argiles. La chaleur a une action sans doute encore plus profonde : elle multiplie par 10 le taux d'acides aminés libres et rend la matière organique plus sensible à l'hydrolyse (PAUL et TU, 1965). En même temps, le chauffage du sol intoxique celui-ci, qui devient défavorable à la culture des micro-organismes comme à la croissance des végétaux supérieurs.

3° Comparaison des effets de la chaleur et de l'irradiation

Les effets chimiques sont beaucoup plus marqués après un traitement à la vapeur qu'après irradiation comme le montrent les chiffres cités par divers auteurs (tableau LXXIV).

TABLEAU LXXIV. — EFFETS DES TRAITEMENTS PHYSIQUES SUR LES SOLS
(selon BOWEN et CAWSE, 1962)

	TÉMOINS				VAPEUR				IRRADIÉ			
Sols n°	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
N— NH_3	7,3	2,8	10,3	0,6	26,1	32,0	104,7	5,6	9,9	4,4	32,9	1,2
Mn	6	11	9	16	22	23	57	71	5	9	10	20
P	24,6	45,6	1,1	5,2	29,8	72,7	2,1	7,2	30,7	46,6	1,2	5,9

Les résultats sont exprimés en ppm.

A cela s'ajoute que les sols désinfectés par la chaleur humide deviennent aussitôt toxiques pour les végétaux supérieurs alors que les sols irradiés leur sont stimulants. La phytotoxicité dans les sols chauffés est très variable suivant la nature du sol et l'époque du traitement ; elle se rencontre surtout en cas de déficience en P et pourrait être attribuée à l'excès d' NH_3 ou de Mn soluble.

Mais il est très probable que se forment en outre, surtout si le traitement est prolongé, des substances toxiques non identifiées. On admet qu'elles proviennent de la dégradation des matières organiques. Il a été suggéré également qu'elles pourraient être élaborées par la fraction de la microflore survivant au traitement, de sorte qu'elles disparaîtraient quand l'équilibre biologique est rétabli (MARTIN et coll., 1963).

Elles sont, en tout cas, hydrosolubles, peu adsorbables et le lessivage du sol les élimine. Elles sont métabolisables et un repos du sol pendant quelques semaines fait disparaître la phytotoxicité même si le taux d' NH_3 continue d'augmenter.

En résumé, la toxicité des sols stérilisés à la vapeur pourrait résulter soit d'une accumulation excessive d' NH_3 , qui n'est pas oxydé par suite de l'inhibition des nitrifiants, soit d'un taux élevé de Mn soluble ou échangeable, soit de substances organiques toxiques.

Aucun de ces facteurs ne se retrouve au même degré dans un sol irradié qui d'emblée est stimulant pour la végétation comme l'est un sol désinfecté à la vapeur après désintoxication. Cette dernière est, sans doute, en partie biologique et l'on peut parler, comme pour les traitements chimiques, d'effets passifs et d'effets actifs.

IV. — ACTION DE LA CHALEUR SUR LA MICROFLORE

1° Effets passifs

Le traitement entraîne une diminution numérique de la microflore totale qui reste longtemps réduite. Par la suite, on assiste à la stimulation déjà signalée après usage des désinfectants généraux. Elle survient nettement après trois mois et demi dans les essais de SIMON-SYLVESTRE.

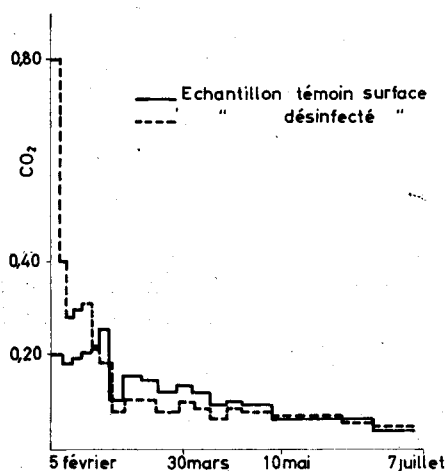


FIG. 138.

FIG. 138. — Influence de la « stérilisation » à la vapeur sur le dégagement de CO_2 d'un sol (SIMON-SYLVESTRE, 1967).

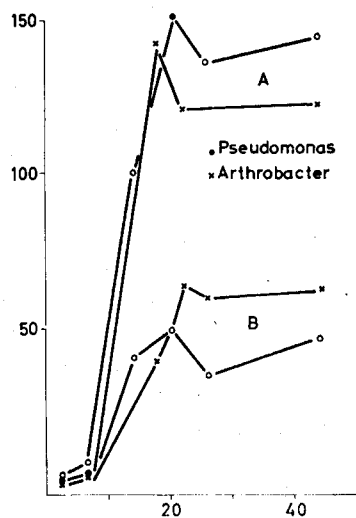


FIG. 139.

FIG. 139. — Croissance de cultures pures bactériennes dans un sol stérilisé par irradiation γ (A) ou par autoclavage (B) (SALONIUS et coll., 1967).

Le dégagement de CO_2 est d'abord exalté pendant quelques jours, peut-être à la suite de phénomènes chimiques concernant la matière organique du sol. Ensuite il s'abaisse au-dessous du témoin et, enfin, les deux courbes se rejoignent (fig. 138).

Quant aux groupes physiologiques, ils sont, dans l'ensemble, détruits ou très diminués (fixateurs et cellulolytiques aérobies, amylolytiques, etc.). Les ammonifiants présentent au contraire une résistance appréciable et sont même favorisés au cours de la recolonisation ; ceci résulte peut-être du fait qu'il s'agit d'un groupe hétérogène comprenant, entre autres, des formes sporulées dont la germination pourrait être stimulée par le chauffage. L' NH_3 qu'elles produisent n'est pas oxydé puisque la nitrification est tout d'abord supprimée, soit sous l'effet direct de la chaleur, soit par suite de la saturation du sol par l'eau de condensation. Elle ne reprend ensuite que lentement et pourtant il semble que les Bactéries nitrifiantes ne soient pas toutes détruites au cours du traitement (SIMON-SYLVESTRE).

Le traitement à la vapeur aérée (OLSEN et BAKER, 1968), par la précision à laquelle il atteint, permet de graduer l'effet obtenu et l'on pourrait envisager d'agir électivement sur certaines couches de la population. Le nombre des Bactéries, Actinomycètes et Champignons est d'abord inversement proportionnel à la température atteinte mais, après dix jours, la relation est devenue directe.

Les sols soumis à l'action de la chaleur par autoclavage deviennent défavorables à la croissance des micro-organismes : le rendement des cultures pures est inférieur à celui que l'on obtient sur un sol irradié (SALONIUS et coll., 1967) (fig. 139), mais il n'en est plus de même dans le cas d'un inoculum naturel complexe.

Le rétablissement du sol autoclavé intervient ensuite après un temps de latence d'autant plus long que le traitement a été plus prolongé (PETERSON, 1962b) mais qui ne correspond pas à une période d'adaptation.

2° Effets actifs

L'expérience montre qu'un sol rendu phytotoxique par traitement thermique devient stimulant s'il a été ensuite inoculé ; ROVIRA et BOWEN (1966) ont cherché à connaître les micro-organismes responsables de cette désintoxication. Ils sont relativement peu nombreux et comprennent quelques souches bactériennes, principalement des *Bacillus*, mais aussi des Champignons : 40 % des souches isolées d'un sol désintoxiqué sont dans ce cas (*Penicillium*, *Aspergillus*, *Humicola*) mais leur efficacité ne se traduit pas toujours par une bonne croissance apparente (*Mortierella*). Par contre, l'un des premiers colonisateurs des sols stériles, *Trichoderma*, est inactif.

On peut conclure de cette expérience que le rétablissement d'un sol stérile est sous la dépendance de sa recolonisation par des espèces capables de détruire les toxines formées et que les *Bacillus*, résistants au chauffage, jouent peut-être un rôle important. Celui des Champignons est plus problématique puisque, nous le verrons plus loin, tous les rapports montrent qu'ils reviennent très tard dans les sols désinfectés.

3° Cas particulier des feux

Ils n'ont d'effet que dans les couches superficielles où la microflore est fortement réduite aussitôt après l'incendie, mais, très vite, dès que l'humidité est suffisante, la population augmente dans des proportions considérables et il ne semble pas exister de période d'intoxication.

L'effet stimulant peut, en effet, intervenir quelques jours seulement après l'incendie (AHLGREN et AHLGREN, 1965) dès que les sels libérés par la combustion des matières organiques sont mis en solution.

Tout naturellement, les sols secs réagissent plus que ceux des landes humides, mais, malgré l'effet stimulant général, la nodulation des Légumineuses paraît entravée pendant assez longtemps (GEHU et GEHU, 1961).

V. — EFFETS DE L'IRRADIATION SUR LA MICROFLORE ET LES ENZYMES DU SOL

1° Doses non létales

a) *Irradiation provenant de la radioactivité naturelle des sols.* — Le sol renferme, en très petites quantités, des substances radioactives qui, d'après certains auteurs (KRASILNIKOV, 1958), joueraient un rôle non négligeable vis-à-vis de la microflore ; ce rôle serait accentué par le fait que certains micro-organismes, dont les *Azotobacter* et les *Rhizobium*, sont capables d'accumuler dans leurs cellules des éléments tels que le radium, le thorium ou l'uranium. KRASILNIKOV a émis l'hypothèse que la radioactivité naturelle constituerait une source d'énergie importante et jouerait le rôle d'un biocatalyseur très efficace notamment dans la fixation de l'N.

Le rendement des micro-organismes fixateurs aux champs, c'est-à-dire dans un milieu où s'exerce la radioactivité naturelle, serait donc plus élevé que le rendement théorique calculé à partir d'expériences de laboratoire.

Ces dernières montrent que, pour fixer 100 à 150 kg d'N, les *Azotobacter* consomment 5 à 10 t de glucose. Or si l'on constate effectivement des taux de fixation d'N *in situ* de 100 à 150 kg à l'hectare, il faut reconnaître que bien peu de sols renferment une quantité de C assimilable équivalant à 5 à 10 t de glucose. L'hypothèse de KRASILNIKOV contribuerait à expliquer l'existence de taux de fixation relativement élevés dans des sols ne présentant pas des réserves de C considérables.

b) Les irradiations de faible intensité peuvent, d'une part, *induire des mutations* et, d'autre part, *stimuler certaines fonctions* ou la *croissance des micro-organismes*.

Nous n'insisterons pas sur le premier effet qui est bien connu des généticiens, mais encore peu étudié en ce qui concerne la microflore du sol. Quant au second effet, ou effet stimulateur, on dispose de données précises surtout en ce qui concerne les fixateurs d'N. La croissance et l'activité d'*Azotobacter* sont exaltées par une irradiation γ à des doses de l'ordre de 100 à 1 000 R. Nous donnons ci-dessous, à titre d'exemple, les résultats d'un travail effectué par SOKUROVA (1956, cité par RUBENCHIK, 1960) (tableau LXXV).

TABLEAU LXXV. — INFLUENCE D'UNE IRRADIATION γ PENDANT 15 HEURES, À DIVERSES DOSES SUR LA DENSITÉ D'UNE CULTURE D'« *AZOTOBACTER CHROOCOCCUM* » (SOKUROVA, 1956)

DOSES APPLIQUÉES EN R	NOMBRE DE CELLULES/ML DE MILIEU		% DU TÉMOIN	% DU NOMBRE INITIAL
	AVANT IRRADIATION	APRÈS IRRADIATION		
<i>Témoin</i>		14 250 000	100	278
100	5 125 000	20 312 000	142	396
10 000		7 625 000	53	149
100 000		5 625 000	39	110

Les rayonnements β de faible activité ont le même effet sur la croissance des *Azotobacter*.

L'irradiation avec des rayons X accroît le pouvoir fixateur du *Rhizobium lupini*; dans ce cas, la dose nécessaire est plus élevée : 50 000 R. Un effet dépressif apparaît lorsque l'on atteint 150 000 R.

Les Algues lacustres réagissent aussi favorablement aux doses moyennes (GILEVA et TIMOFEEVA, 1964); il est probable qu'il en est de même pour les Algues du sol.

L'effet de l'irradiation est très sensible à certains facteurs (composition du milieu, par exemple) de sorte qu'il est difficile de comparer des résultats d'expériences qui n'ont pas été conduites dans des conditions identiques. On conçoit donc fort bien que l'effet de l'irradiation puisse être différent quand on passe d'un milieu artificiel au sol lui-même ou d'un type de sol à un autre.

c) *Les doses un peu supérieures aux doses favorables* provoquent une dégénérescence des cellules microbiennes, un accroissement de leur taille, l'apparition de vacuoles et de granulations dans le protoplasme, un ralentissement et éventuellement un arrêt des processus de reproduction (KRASILNIKOV, 1958).

2° Doses létales et sublétales

a) *Effets sur la microflore.* — Les micro-organismes sont beaucoup plus résistants à l'irradiation que les autres êtres vivants. Ainsi la DL 50 est de 400 R pour

l'homme, 10 000 R pour *Escherichia coli*, en culture pure, 100 000 R pour une Amibe (HAWKER et coll., 1960). On sait également que la sensibilité ou la résistance des micro-organismes à l'action létale de l'irradiation varie considérablement en fonction de facteurs extérieurs multiples, de nature chimique ou physique. Il faut donc s'attendre à ce que les résultats concernant l'effet des irradiations dans les sols ne se recouvrent qu'approximativement, puisque les conditions expérimentales ne sont pas identiques : en particulier, les sols utilisés sont toujours différents.

Par exemple, l'effet de la stérilisation n'est pas le même en sol sec qu'en sol humide et la sensibilité des Bactéries augmente avec la profondeur, peut-être parce que la matière organique aurait un effet protecteur (JACKSON et coll., 1967).

Il est toutefois possible de dégager un certain nombre de règles cohérentes.

— Les doses nécessaires pour obtenir une stérilisation complète sont élevées, de l'ordre de 4 Mrad (4×10^6 rad). La figure 140 résume les résultats d'une étude consacrée aux effets de l'irradiation γ d'un sol sableux.

S'il est difficile d'assurer une stérilisation absolue, il est possible d'obtenir un pourcentage assez élevé d'échantillons effectivement stérilisés, que l'on pourra contrôler par incubation, avec des doses de 1 110 krad (ROBERGE et KNOWLES, 1967).

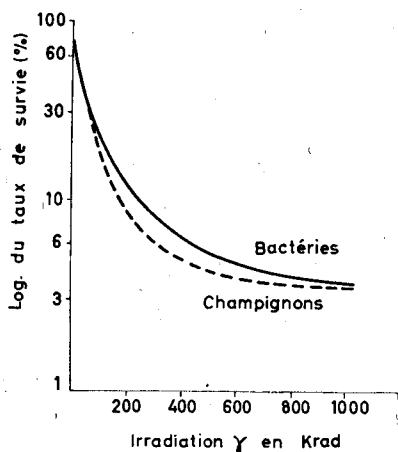


FIG. 140. — Effet de l'irradiation γ sur la microflore fongique et bactérienne dans un sol finement sablonneux de l'Amérique du Nord (POPENOE et ENO, 1962).

Pour les *Rhizobium*, elle serait de l'ordre de 3 Mrad (BOWEN et CAWSE, 1964).

La microflore sulfo-oxydante d'un sol sableux, étudié par POPENOE et ENO (1962), comprend deux groupes de micro-organismes, l'un très sensible (dose létale : 0,016 Mrad), l'autre plus résistant (DL : 0,064 Mrad).

— Les différents secteurs de la microflore totale se classent dans l'ordre croissant de résistance à l'irradiation : Bactéries non sporulées, Champignons, Levures, Bactéries sporulées (fig. 140) (STANOVICK et coll., 1961 ; PETERSON, 1962b). La faune est plus sensible que la microflore puisque les Insectes et les Nématodes disparaissent à des doses allant de 0,05 à 0,25 Mrad (BOWEN et CAWSE, 1962 ; POPENOE et ENO, 1962).

Parmi les Champignons, les Moniliacées sont plus sensibles que les Dématiacées, protégées, sans doute, par la mélanine qui incruste leurs parois (JOHNSON et TEMPLE, 1964).

Les Algues bleues se classent parmi les organismes les plus résistants : elles supportent des doses de 2 Mrad (POPENOE et ENO, 1962).

— Les groupes physiologiques :

Pour les *Azotobacter*, comme pour les Bactéries nitrifiantes, la dose létale varie de 0,1 à 1 Mrad au maximum (BERNARD et GELLER, 1962 ; VELA et WYSS, 1962).

Quant aux ammonifiants, ils se retrouvent, encore une fois et pour les mêmes raisons que précédemment, parmi les moins sensibles (VELA et WYSS, 1962).

b) *Les enzymes.* — En règle générale, les enzymes sont beaucoup plus résistantes aux radiations que les micro-organismes eux-mêmes. En conséquence, un sol stérile, c'est-à-dire ayant reçu des doses d'au moins 4 Mrad présente encore certaines formes d'activité enzymatique : uréase (MCLAREN et coll., 1957), phosphatase (MCLAREN et coll., 1962), enzymes respiratoires (PETERSON, 1962a).

Ce dernier point a pour conséquence qu'un sol stérilisé totalement respire encore, à moins que la dose appliquée n'ait été très élevée, bien supérieure à 4 Mrad (SKOU, 1962). Peut-être cette remarque permet-elle d'expliquer, au moins en partie, le fait que la corrélation entre les numérations par culture et l'intensité respiratoire du sol est mauvaise alors qu'elle est meilleure entre la numération par comptage direct et le volume de CO_2 dégagé (PETERSON, 1962b).

C. — LA RECOLONISATION

Nous avons appris, en étudiant l'effet passif des divers traitements, qu'après une période de dépression, la microflore retrouvait plus ou moins rapidement son activité et que celle-ci pouvait même dépasser son niveau antérieur au traitement.

Mais cet effet secondaire de stimulation n'est pas uniforme pour tous les groupes systématiques et physiologiques et de nombreux exemples montrent qu'un traitement pesticide peut donner d'excellents résultats comme il peut favoriser les parasites qu'il aurait dû détruire ou en sélectionner de nouveaux.

Un sol sain est défini par un certain état d'équilibre biologique (DOMSCH, 1963) en relation avec sa productivité. Cette dernière diminue lorsque cet état est modifié, par exemple par la prolifération d'un parasite. Le but premier du traitement est de supprimer ce déséquilibre, mais il est nécessaire que, par la suite, le sol retrouve un état normal et sain.

Ceci est d'autant plus important que le semis ou la plantation dans un sol « stérilisé » apporte à celui-ci des substrats électifs pour les parasites radiculaires à un moment où ces derniers rencontrent des phénomènes d'antagonisme réduits, du fait de la destruction partielle des saprophytes.

I. — INFLUENCE DU TRAITEMENT

Si l'on excepte la rhizosphère ou les débris végétaux frais au niveau desquels l'activité biologique est intense, le sol apparaît comme un système relativement statique. Toutes les niches écologiques sont occupées de sorte que les organismes étrangers ont peu de chances de pouvoir y prendre pied et que la population tend vers un état quiescent.

L'effet primaire du traitement est de détruire en partie les occupants du sol : micro-organismes, mésofaune, racines des végétaux supérieurs. Ceci fait apparaître une quantité appréciable de substrats énergétiques nouveaux. De plus les niches précédemment occupées deviennent disponibles. Plus le traitement est énergique, plus sa spécificité est faible et plus cet effet est marqué, plus la recolonisation est donc intense et rapide à partir du moment où n'existent pas de résidus toxiques ou bien quand leur concentration est assez faible.

A cet effet commun à tous les traitements s'ajoutent :

- dans le cas des pesticides, le fait que ces derniers sont eux-mêmes des substrats utilisables comme sources de C, N, P, S ;
- parfois une solubilisation des cations ;
- dans le cas de la vapeur et, à un moindre degré, avec les méthodes chimiques et l'irradiation, des altérations des matières organiques du sol rendant celles-ci plus disponibles.

En résumé, les micro-organismes trouvent dans les sols partiellement stérilisés, non seulement un « vide biologique » qui leur laisse le champ libre, mais aussi des nutriments supplémentaires, inorganiques, mais surtout organiques.

Il n'y a pas lieu de chercher d'autres explications aux effets secondaires stimulants que nous avons signalés plus haut (JENKINSON, 1966).

Un traitement désinfectant par le chloroforme, appliqué à un sol enrichi antérieurement par de la paille ^{14}C détermine un dégagement abondant de CO_2 fortement marqué ; avec les méthodes physiques, le marquage du gaz carbonique formé est moins important. Un certain nombre d'arguments (JENKINSON, 1966, 1968) permet de croire que la fraction marquée et labile du sol n'appartient guère aux débris de paille ; c'est plutôt la biomasse édifiée à partir de ceux-ci qui a été tuée par le chloroforme et qui constitue l'aliment principal des nouveaux habitants du sol.

La stimulation provoquée par les traitements pesticides est quelquefois si importante qu'on l'a comparée à l'effet d'activation (priming action) : une utilisation prolongée et à dose suffisante de l'herbicide monuron paraît même conduire à une diminution des réserves carbonées et azotées du sol (DE BARJAC et coll., 1958).

II. — D'OÙ VIENNENT LES NOUVEAUX OCCUPANTS ?

1° Ce sont, bien sûr, en premier lieu ceux qui ont pu résister au traitement :

soit du fait de la spécificité de celui-ci ;

soit parce qu'ils se trouvaient à l'état d'organes de résistance : endospores et kystes des Bactéries, chlamydospores, sclérotés, etc. chez les Champignons ;

soit enfin parce qu'il ont bénéficié d'une protection écologique (KREUTZER, 1965), à l'intérieur d'un substrat convenable : c'est le cas de Nématodes résistant à l'intérieur de leurs galles, des Champignons dans les graines, etc. Il en résulte qu'un traitement efficace contre un parasite libre n'entraîne pas nécessairement son élimination complète du sol.

2° Le sol est encore envahi par les micro-organismes présents dans les zones voisines de la région traitée, là où les doses atteintes sont demeurées insuffisantes pour assurer une désinfection.

3° Le vide biologique créé par la stérilisation rend possible l'implantation d'organismes étrangers, même s'ils n'existaient pas dans l'écosystème initial. Ils peuvent être véhiculés par les eaux de ruissellement, par la pluie, le vent, les vêtements des travailleurs (cf. par exemple, VAARTAJA, 1967).

III. — FACTEURS DE LA RECOLONISATION

Survivants ou nouveaux venus, les germes présents ne sont que des coloniseurs potentiels dont l'installation effective est plus ou moins probable suivant :

— leur date d'arrivée ;

— la nature des substrats disponibles ;

— leurs aptitudes propres à coloniser ces derniers de façon prioritaire ; c'est ce que les mycologues appellent « aptitudes saprophytiques compétitives ». Elles reposent sur la production par l'organisme de systèmes enzymatiques lui permettant d'exploiter le substrat, sur sa vitesse de croissance linéaire et sa fécondité, dans le cas d'organismes filamenteux, enfin sur les substances qu'il peut élaborer pour limiter les activités de ses concurrents (GARRETT, 1956).

Il faut toutefois se rappeler, en ce qui concerne les Champignons, combien les techniques courantes sont imparfaites et qu'elles renseignent surtout sur le nombre de propagules viables et bien peu sur les activités réelles. Ceci pourrait suffire à expliquer

la prédominance des formes les plus fertiles (CORDEN et YOUNG, 1965) alors que d'autres espèces existent et prolifèrent sans doute aussi, comme le montre l'emploi de méthodes de piégeage (VAARTAJA, 1967). Ceci doit nous inciter à une certaine prudence dans l'interprétation des données de la littérature.

IV. — LES POPULATIONS

Le sol stérilisé est, sans aucun doute, recolonisé par des stades sériels successifs, mais nous en savons encore bien peu à leur sujet et les reconstitutions auxquelles on peut se livrer ont le caractère d'hypothèses vraisemblables fondées sur ce que l'on connaît des populations des matières organiques en décomposition.

On peut supposer ainsi que les premiers stades comprennent les formes envahissantes favorisées par un niveau énergétique élevé et utilisant les sucres et les acides aminés. REBER (1967) a observé, après traitement aux désinfectants généraux, deux poussées bactériennes dont la première correspondrait à la multiplication des germes ammonifiants.

On admet, en général, que les Bactéries sont les premières à se multiplier, en particulier les Bactéries sporulées : par exemple après des traitements à la chloropicrine, au bromure de méthyle, au MIT (méthylisothiocyanate), l'augmentation numérique de la population bactérienne est rapide alors que les Champignons ne deviennent décelables que beaucoup plus tard (REBER, 1967) (fig. 141).

BRIND (1965) rend compte d'essais comparatifs utilisant le formol ou la vapeur dans des pépinières forestières. Les deux traitements provoquent une augmentation marquée du nombre total des Bactéries et cet effet reste notable après plus d'un an. Il débute au bout de trois semaines (vapeur) ou de cinq semaines (formol) et s'exerce surtout sur les Bactéries dénitrifiantes dont le nombre est multiplié par 4 à 10. Au contraire les Champignons se réinstallent si lentement que leur nombre est encore très réduit après deux ans.

En fait l'action des traitements est sans doute assez spécifique pour régler, avec les conditions du milieu, le sens et l'intensité des phénomènes de compétition qui déterminent la nature du peuplement.

Cet effet sélectif porte sur les groupes physiologiques, nutritionnels et morphologiques. En particulier les Bactéries sporulées sont avantagées par le chauffage, les nématocides, la chloropicrine (LE BORGNE, 1966). Le bromure de méthyle présente une toxicité intrinsèque inférieure à celle de la chloropicrine et pourtant agit davantage sur les spores bactériennes peut-être en raison de son pouvoir pénétrant. Moins sélectif, il crée un vide biologique et une stimulation plus considérables, mais aussi des déséquilibres plus importants (REBER, 1967).

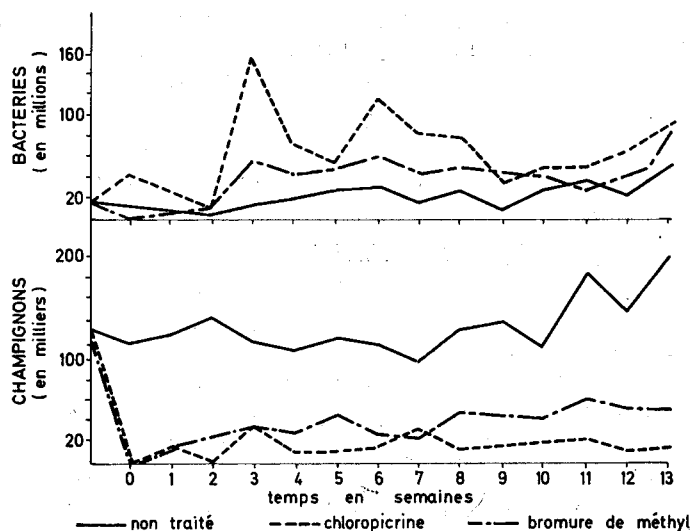


FIG. 141. — Nombre des Champignons et des Bactéries dans un sol traité par des antiseptiques généraux (REBER, 1967).

Quant aux groupes physiologiques, les ammonifiants sont très généralement parmi les formes les plus avantagées (pesticides, vapeur, radiations). Les fonctions amylolytiques et protéolytiques se rétablissent aussi très vite : quinze jours après un traitement à la vapeur. Après un mois, l'activité cellulolytique anaérobie est intense et les *Clostridium* fixateurs nombreux, mais non les cellulolytiques aérobies (COLENO et coll., 1965).

On a déjà signalé la sensibilité des nitrifiants qui se rétablissent lentement : même après irradiation, ils n'atteignent qu'un niveau inférieur de moitié à celui qu'ils occupaient dans le sol témoin, et ceci après un mois (STANOVICK et coll., 1961).

Il peut même arriver qu'un secteur de la population soit particulièrement sensible : ainsi les radiations à des doses insuffisantes pour entraîner une stérilisation complète pourraient éliminer irréversiblement les fixateurs libres (VELA et WYSS, 1962) ou les *Rhizobium* (STANOVICK et coll., 1961).

Du point de vue systématique, la spécificité des traitements a été mise en évidence, dans le cas d'antiseptiques généraux, pour les Actinomycètes par REBER (1967) et, pour les Champignons, par de nombreux travaux. Les premiers coloniseurs sont souvent des formes *Trichoderma*, parfois des Aspergillacées. Or les unes et les autres sont, avec les *Chaetomium* parmi les plus tolérantes à la désinfection du sol.

Ainsi après application de formol, les *Trichoderma* sont en général dominants. Il en est de même après fumigation au sulfure de carbone, à dose modérée, sinon ce sont des Aspergillacées qui l'emportent. Mais en sol tassé, les Phycormycètes sont les principaux coloniseurs après un traitement par le formol. La vapeur permet l'édification de

populations fongiques variées où parfois dominent les *Mortierella*. Enfin, si la stérilisation est totale, l'invasion du sol, à partir d'un échantillon non traité à lieu, pour les Champignons, dans l'ordre des vitesses de croissance (WARCUP, 1952 ; EVANS, 1955 ; COLENO et coll., 1965, etc.).

V. — INOCULATION DU SOL

Il est important pour le succès du traitement que les niches écologiques libérées ou créées soient occupées aussi vite que possible par des organismes favorables, avant le rétablissement des espèces nuisibles. Il est avantageux d'assurer une désintoxication rapide du sol. Il pourrait donc être intéressant d'inoculer le sol traité soit avec un peu de terre non désinfectée et saine, soit avec des cultures convenablement choisies.

Mais l'opération a des conséquences limitées (fig. 142). COLENO et ses collabora-

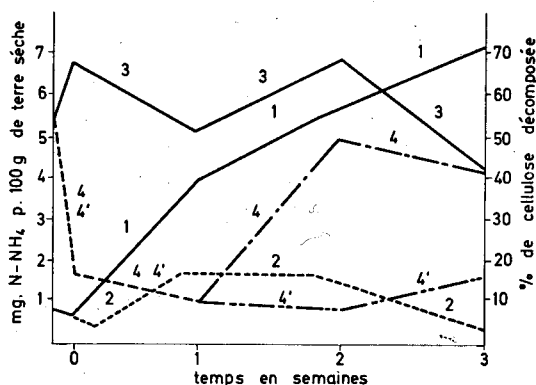


FIG. 142. — Influence de l'inoculation d'un sol stérile sur la production d'ammoniac et la cellulolyse (COLENO et coll., 1965 ; REBER, 1967). 1, ammonification, traité, non inoculé ; 2, ammonification, traité et inoculé ; 3, cellulolyse, non traité ; 4, cellulolyse, traité et inoculé ; 4', cellulolyse, traité non inoculé.

teurs (1965) montrent qu'il est possible de réduire l'accumulation d'ammoniac dans un sol chauffé en y ensemençant des Bactéries nitrifiantes. Selon REBER (1967), seules ces dernières et les cellulolytiques paraissent s'acclimater ; les formes les plus spécialisées semblent donc être celles qui ont le plus de chances de s'adapter après désinfection du sol. On observe bien aussi une augmentation de la population totale après introduction d'un inoculum mixte, mais ceci peut résulter simplement de ce que les produits libérés par la dégradation de la cellulose lui servent d'aliments.

L'emploi de nitragine après stérilisation chimique ou physique améliore le rendement de la Luzerne, probablement parce que les souches natives et pauvres ont été éliminées et n'entrent pas en compétition avec les Bactéries sélectionnées, ou bien parce que certains antagonismes sont supprimés (KHAN et coll., 1968).

On peut se demander avec KREUTZER (1965) s'il ne serait pas possible de contrôler la recolonisation par des apports de substrats choisis et des inoculations judicieuses ; le simple apport d'engrais vert suffit bien, parfois, à réprimer les parasites présents dans le sol en déplaçant l'équilibre biologique de celui-ci.

CONCLUSION. *Implications agronomiques.* — On vient de voir que l'intérêt des traitements désinfectants ne se limitait pas à l'élimination des parasites et que l'on pouvait espérer un jour « créer » dans le sol des populations favorables.

Un sol « stérilisé » devient à plus ou moins brève échéance plus favorable aux végétaux supérieurs que le même sol non traité.

On pourrait supposer que ceci résulte de la mobilisation de l'N. Mais une fumure azotée correspondant à l'effet du traitement est moins favorable que celui-ci.

L'élimination des parasites et des mauvaises herbes n'apporte qu'une explication partielle, car l'effet stimulant se manifeste même si le sol était sain.

On a donc pensé à la production de substances de croissance ou d'autres composés stimulants, peut-être en conséquence de l'accroissement des activités biologiques (SIMON-SYLVESTRE, 1967).

Il est possible aussi que le sol non traité contienne des cénotes défavorables, par exemple une microflore phytotoxique équilibrée et dépourvue d'action morphologique de sorte que son action se traduirait simplement par une diminution des rendements. On sait d'ailleurs que les antibiotiques comme la streptomycine sont phytotoxiques, que certaines microflores empêchent l'absorption de tel ou tel élément. Si nos connaissances des relations entre la plante et les populations du sol étaient plus approfondies, on pourrait envisager d'influer sur la composition de ces dernières, par exemple par inoculation des semences et apport d'amendements convenables. Peut-être trouverait-on là un moyen de lutte contre la « fatigue des sols ».

QUATRIÈME PARTIE

**INTERACTIONS
ENTRE LA MICROFLORE TELLURIQUE
ET LA VÉGÉTATION**

Au cours de l'étude des facteurs écologiques majeurs régissant l'activité des micro-organismes intervenant dans les cycles des différents éléments, nous avons évoqué à maintes reprises l'influence de la végétation sur la microflore. Cette influence s'exerce : 1° directement par apport de substances énergétiques, stimulantes ou inhibitrices, sous forme d'exsudats racinaires ou de débris végétaux ; 2° indirectement par modification du milieu physique (par exemple, température et humidité) ou chimique (par exemple, absorption d'éléments). Inversement, la microflore agit sur la nutrition des plantes : 1° directement par les divers composés qu'elle libère dans le sol ; 2° indirectement par modification du milieu physique (par exemple, structure) ou chimique (par exemple, immobilisation d'éléments nutritifs).

Les interactions complexes qui s'établissent entre les plantes et les micro-organismes présentent ou non un caractère symbiotique. Dans cette quatrième partie, nous examinerons successivement le problème des interactions non symbiotiques au niveau des litières et des rhizosphères, puis celui des associations à caractère symbiotique : associations fixatrices d'azote et associations mycorrhiziennes.

CHAPITRE PREMIER

INTERACTIONS ENTRE LA MICROFLORE TELLURIQUE ET LA VÉGÉTATION AU NIVEAU DES LITIÈRES

Ces interactions se manifestent avec le plus d'intensité dans le cas des formations végétales pérennes fermées, essentiellement formations ligneuses (forêts), accessoirement formations herbacées (prairies naturelles ou artificielles).

I. — INFLUENCE DES LITIÈRES SUR LA MICROFLORE

Lorsqu'ils meurent, les organes aériens des plantes (feuilles, fleurs, brindilles, etc.) tombent sur le sol et forment la *litière*.

La litière est constituée de deux fractions :

a) *La fraction hydrosoluble*, qui est rapidement entraînée après la chute des feuilles vers les horizons minéraux ;

b) *La fraction non hydrosoluble*, qui reste à la surface du sol, où elle subit une décomposition anaérobie ou semi-anaérobie sous l'action de vagues successives de micro-organismes. En région tempérée, cette décomposition, lente en hiver, s'accélère au printemps, car une température plus élevée et une meilleure aération favorisent la microfaune et la microflore. L'incorporation aux horizons minéraux de la fraction non hydrosoluble est essentiellement le fait de la faune du sol.

La fraction hydrosoluble des litières n'intervient pas seulement en tant qu'agent régulateur des processus biologiques dans le sol ; elle joue aussi un rôle important dans les processus de chéluviation des ions métalliques car elle est riche en substances complexantes (cf. p. 290).

Il est souvent difficile de dissocier l'effet de la fraction hydrosoluble des litières de l'effet des eaux pluviales de percolation à travers les frondaisons en place. On a démontré qu'en percolant à travers les feuilles non encore tombées, les eaux de pluie

peuvent s'enrichir considérablement en composés organiques et éléments minéraux (cf. p. 99).

1° Apport de substrats énergétiques et composés nutritifs divers

Les résidus végétaux qui retournent au sol fournissent à la microflore tellurique hétérotrophe des quantités de substrats énergétiques parfois considérables : ces apports exprimés en kg C/ha/an varient de 0,5 à 2 tonnes dans les forêts des zones tempérées et froides pour atteindre 2 à 8 tonnes dans les forêts tropicales humides (OLSON, 1963 ; MALDAGUE, 1967). L'effet stimulant de ces apports sur la microflore est encore accru en région tropicale par le fait que les litières qui retournent au sol sont plus riches en azote et en éléments minéraux divers que les litières des régions tempérées (NYE, 1961 ; DOMMERGUES, 1963b).

La microflore tellurique, qui comprend de très nombreuses souches exigeantes sur le plan nutritionnel (cf. p. 14), bénéficie aussi certainement des vitamines contenues dans les débris végétaux.

2° Apport de produits toxiques

a) *Faits d'observation.* — Certaines litières forestières sont très nettement inhibitrices vis-à-vis des micro-organismes sensibles aux substances toxiques de toutes sortes ; il s'agit notamment, mais pas exclusivement, des Bactéries nitrifiantes autotrophes et Bactéries fixatrices d'azote appartenant aux genres *Azotobacter* et *Beijerinckia*. Cette action inhibitrice a été démontrée dans le cas de formations forestières tempérées par différents auteurs dont KRASILNIKOV (1958) ; elle est particulièrement marquée chez les Conifères (BAUZON et coll., 1969). Dans les formations forestières ombrophiles tropicales, les nitrificateurs autotrophes et les *Beijerinckia* sont souvent éliminés (DOMMERGUES, 1953 ; HILGER, 1963a). Par contre, dans les formations tropicales sèches ou semi-humides, on observe souvent une stimulation des nitrificateurs autotrophes (DOMMERGUES, 1956b ; MEIKLEJOHN, 1962).

b) *Nature chimique des substances toxiques.* — Il s'agit essentiellement de composés phénoliques ou comportant des radicaux phénoliques (fig. 143) : ainsi, SENING (1963) a montré que le pouvoir inhibiteur des extraits aqueux de feuilles d'*Aesculus hippocastanum* et *Acer platanoides* vis-à-vis des micro-organismes cellulolytiques du genre *Sporocytophaga* est dû, en grande partie, à un triphénol (phloroglucinol) et à la coumarine. De son côté RICE (1967) a mis en évidence la toxicité d'extraits aqueux d'organes aériens de différentes espèces herbacées, dont *Ambrosia elatior*, *Euphorbia corollata*, *Helianthus annuus*, vis-à-vis d'*Azotobacter*, *Rhizobium*, *Nitrosomonas*, *Nitrobacter*. Les substances actives seraient, dans le cas de ces plantes :

1° des gallotanins qui agiraient par leur aptitude remarquable à précipiter les protéines ;

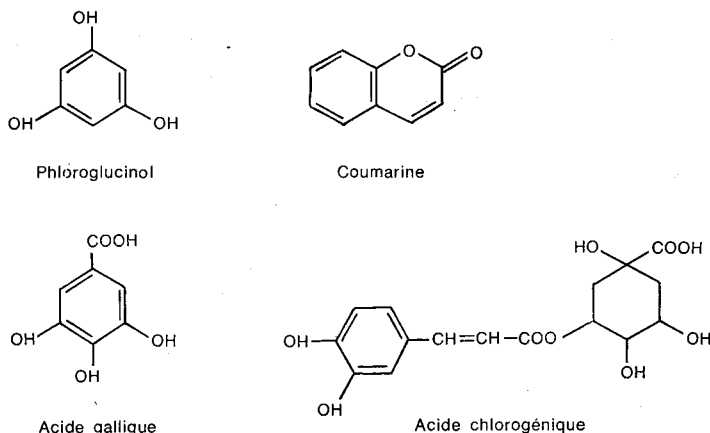


FIG. 143. — Composés phénoliques, d'origine végétale, inhibant *Sporocytophaga* (phloroglucinol, coumarine), *Azotobacter*, *Rhizobium*, *Nitrosomonas* et *Nitrobacter* (acide gallique, acide chlorogénique).

2° des acides chlorogéniques qui interviendraient en inhibant certains systèmes enzymatiques.

Des résultats très voisins ont été obtenus par BUKATSCH et SÄURIG (1963), qui ont démontré l'action inhibitrice de polyphénols contenus dans des extraits aqueux de feuilles vis-à-vis d'*Azotobacter chroococcum* et *A. agile*; les substances les plus nocives vis-à-vis de la fixation d'azote et de la respiration des *Azotobacter* sont l'acide gallique et le phloroglucinol, cette action étant plus marquée sous la forme moléculaire que sous la forme ionique; les flavonoïdes seraient moins toxiques.

Ces cas d'inhibition concernent des résidus végétaux frais ou relativement frais (feuilles tombées à l'automne, par exemple); mais on sait également que des résidus végétaux en voie de décomposition ou même déjà humifiés (MOREAU, 1959) peuvent montrer une certaine toxicité vis-à-vis de nombreux micro-organismes.

c) **Conditions d'intervention des substances toxiques.** — La toxicité des substances inhibitrices est fonction de leur concentration dans le sol; il résulte, en effet, des travaux de KNÖSEL (1959) que les acides-phénols libérés par la décomposition des plantes sont inhibiteurs à forte dose mais pourraient devenir stimulants à faible dose.

Les substances d'origine végétale qui pénètrent dans le sol y persistent plus ou moins longtemps. Elles subissent, en effet, une biodégradation qui est fonction à la fois de leur structure chimique et des conditions écologiques. En ce qui concerne la structure chimique, on indiquera par exemple que l'acide gallique est plus sensible à la biodégradation que le phloroglucinol; parmi les flavonoïdes, la robinine semble être le

produit le plus résistant (BUKATSCH et SÄURIG, 1963). Quant à l'écologie de la biodégradation, on la connaît très mal. Les quelques observations dont on dispose incitent à penser que l'anaérobiose et l'acidité sont favorables à la conservation de ces substances dans le sol. L'activation de la nitrification des sols forestiers à la suite de leur mise en culture ou de leur labour (LOSSAINT et RAPP, 1960) pourrait s'expliquer en partie par une accélération de la biodégradation des substances toxiques consécutive à l'amélioration de l'aération du sol.

Rappelons que l'effet inhibiteur des substances toxiques peut disparaître à la suite de leur lessivage par les eaux météoriques (cf. p. 425).

3° Modification du pH du sol

Les litières élèvent parfois le pH du sol ; mais plus généralement elles l'abaissent : une acidification d'une ou deux unités pH n'est pas rare.

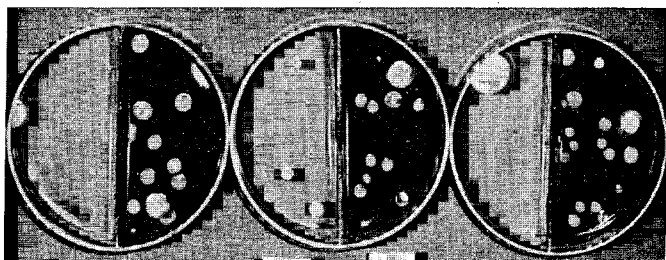


FIG. 144. — Mise en évidence de l'activité antimicrobienne d'un extrait aqueux de litière de Conifère, comparée à celle d'un extrait aqueux de litière d'espèce feuillue (BECK et coll., 1969). La moitié gauche des boîtes bi-Petri simule l'environnement sous *Picea abies* (milieu de pH 4,6, renfermant 50 % d'extrait de litière de *P. abies*). La moitié droite simule l'environnement sous *Fagus sylvatica* (milieu de pH 5,2, renfermant 50 % d'extrait de litière de *F. sylvatica*). Chaque boîte bi-Petri a reçu un inoculum, uniformément réparti par aérosol, constitué par une suspension-dilution de sol brun calcaire. L'inhibition de la microflore du sol brun calcaire par l'extrait de *P. abies* est particulièrement nette ; elle résulte du renforcement de l'activité antimicrobienne de cet extrait par l'acidité du milieu.

L'abaissement du pH exerce une influence dépressive marquée sur la population bactérienne ; par contre, la microflore fongique est souvent stimulée indirectement par réduction de la compétition bactérienne. En outre, cette acidification renforce l'action létale ou inhibitrice des toxines que l'on vient d'évoquer au paragraphe précédent

(fig. 144). Inversement, l'élévation du pH par adjonction de CaCO_3 lève l'effet inhibiteur de ces substances (fig. 145).

4° Notion de stabilité ou d'instabilité de l'équilibre biologique du sol

De l'étude de l'évolution biologique de nombreux sols sous l'influence de formations forestières fermées, nous sommes arrivés à la conclusion qu'il était nécessaire de distinguer :

a) *Les sols à équilibre biologique stable*, peu sensibles aux modifications du couvert végétal. Appartiennent à cette catégorie : les sols alluviaux riches en réserves minérales ; les sols vertisoliques et sols assimilés.

b) *Les sols à équilibre biologique instable*, très sensibles aux différents facteurs de dégradation de la couverture végétale ou très sensibles à la composition floristique de cette couverture végétale : ce sont essentiellement les sols très pauvres en colloïdes argileux, développés sur matériaux sableux, tels que les sols à évolution podzolique ou les sols dunaires.

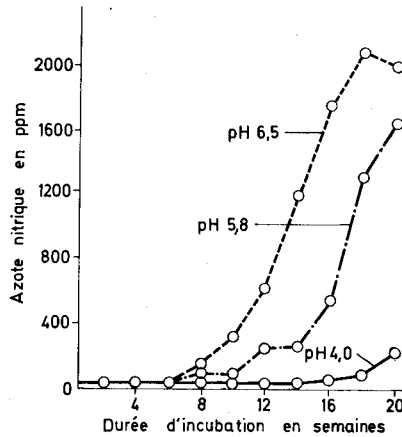


FIG. 145. — Levée de l'inhibition de la nitrification dans un mor sur podzol par adjonction de CaCO_3 (BERNIER et ROBERGE, 1962).

II. — INFLUENCE DE LA MICROFLORE DES LITIÈRES SUR LA VÉGÉTATION

On a vu que les formations végétales fermées exercent sur la microflore une influence qui se traduit par une stimulation ou une inhibition de certains secteurs de la microflore tellurique. Ces modifications du spectre biologique — qui se manifestent avec intensité dans la litière ou les horizons adjacents — retentissent à leur tour sur la végétation suivant des modalités encore mal connues.

a) *Conséquences pour la végétation de la stimulation de certains secteurs de la microflore tellurique.* — De recherches portant sur des litières artificielles, telles que des paillis (McCALLA et coll., 1963 ; PATRICK et coll., 1963), il ressort que certaines espèces microbiennes peuvent synthétiser des substances phytotoxiques.

b) *Conséquences pour la végétation de l'inhibition de certains secteurs de la microflore tellurique.* — Si elle n'est pas accompagnée d'un ralentissement de l'ammo-

nification, l'inhibition de la nitrification, fréquente sous les formations forestières de zone tempérée ou tropicale humide, peut avoir les mêmes conséquences heureuses que l'application d'inhibiteurs de synthèse (cf. p. 209), à savoir le ralentissement des pertes d'azote par lessivage ou dénitrification ; la végétation dispose alors d'un stock d'azote plus important.

Mais, bien souvent, l'inhibition de l'activité de la microflore s'avère néfaste pour la végétation. D'après RUNOV et YEGOROVA (1963), cette inhibition serait, au moins partiellement, à l'origine des fatigues des vergers ou de la toxicité des sols forestiers. On sait que les végétaux exsudent parfois des substances toxiques pour eux-mêmes (autotoxicité) ou pour d'autres végétaux (BOULLARD et MOREAU, 1962 ; BOULLARD, 1967). Ces substances phytotoxiques seraient, en général, biodégradées par la microflore tellurique au fur et à mesure de leur production (cf. p. 571) ; mais lorsque la microflore est partiellement inhibée, les substances phytotoxiques, qui ne sont plus biodégradées, s'accumulent et nuisent au développement des plantes. La biodégradation des substances phytotoxiques peut reprendre activement à la suite, par exemple, de certaines opérations culturales : labour, par exemple, ou destruction du peuplement végétal.

Un autre exemple de l'effet défavorable du blocage de l'activité microbienne nous est fourni par les sols à *humus brut* (mor) où la minéralisation de l'azote est souvent réduite à un niveau tel que la productivité des peuplements est très faible (BERNIER et ROBERGE, 1962).

III. — EFFET DE COUVERT

Nous désignons par l'expression *effet de couvert*, l'ensemble des effets complexes que la végétation exerce sur la microflore tellurique, non seulement par apport de litières, d'exsudats racinaires et de produits de percolation à travers le feuillage, mais aussi par l'intermédiaire de processus divers induisant des modifications du pédoclimat ou du régime hydrique du sol.

L'effet de couvert est très marqué en *climat tropical* où CUNNINGHAM (1962) a montré que l'exposition brutale du sol aux rayons solaires par destruction du couvert végétal réduit considérablement sa teneur en azote minéralisable⁽¹⁾ ; cette baisse de la teneur en azote minéralisable est le résultat d'une biodégradation rapide de la matière organique du sol, que l'agronome considère comme indésirable, notamment sous climat tropical.

(1) Par azote minéralisable, on entend la fraction d'azote du sol qui se minéralise sous forme ammoniacale ou nitrrique au cours d'une incubation de l'ordre de trois semaines dans des conditions précises, mais arbitraires, de température et d'humidité (en général, 28 °C à 60 % de la capacité au champ).

Un effet du même type s'exerce dans le cas des brise-vent, dans les sols châtaîns de la zone aride de Stavropol en URSS ; PISEMSKAYA (1963) a noté en effet que le nombre des Champignons, Actinomycètes, germes ammonifiants et cellulolytiques, Bactéries solubilisant les phosphates, *Clostridium pasteurianum*, Bactéries productrices d'acide butyrique, diminue quand on s'éloigne des brise-vent. Inversement, la densité des *Azotobacter* et des Bactéries nitrifiantes augmente, fait que l'on pouvait prévoir, puisque l'on sait que, bien souvent, la végétation forestière exerce un effet inhibiteur vis-à-vis de ces deux types de micro-organismes très sensibles. Parallèlement, on observe une accumulation d'humus et d'azote sur une bande de 50 m le long des brise-vent.

CHAPITRE II

SPERMOSPHERE ET PHYLLOSHERE

On a étudié ailleurs la population microbienne particulière qui vit dans la sphère d'influence de la racine, la rhizosphère. La plante crée encore à son voisinage d'autres milieux particuliers peuplés par des microflore plus ou moins spécialisées et qui sont encore insuffisamment connues.

L'un est constitué par la surface de la graine en germination et les régions immédiatement avoisinantes du sol — ou plus généralement du milieu où la semence germe — c'est la spermosphère.

L'autre est représenté par la surface même des feuilles, c'est la phyllosphère qui s'étend sans doute aux autres organes aériens.

Lorsqu'une graine germe, la microflore présente à sa surface tend à envahir les différents organes de la plantule, puis lorsque ceux-ci se développent, leurs populations sont soumises aux actions du milieu édaphique ou aérien ainsi qu'à celles de leurs habitants : microflore du sol et germes atmosphériques. La composition initiale du peuplement se modifie et l'on passe aux flores caractéristiques de la rhizosphère et de la phyllosphère. Il y a ainsi une dynamique fort complexe et imparfaitement connue des populations épiphytes.

I. — LA SPERMOSPHERE

La spermatosphère ou spermosphère est le lieu privilégié créé, normalement dans le sol, mais aussi dans tout autre milieu, par une graine en voie de germination jusqu'à l'instant où émerge sa radicule.

A son niveau s'établissent des interactions entre la plante et les populations apportées par la semence et le milieu : leur résultante a été appelée effet-graine par VERONA (1963).

1° Le milieu spermosphère

a) Il est déterminé tout d'abord **par le substrat** où intervient la germination, qu'il s'agisse du sol ou des solutions et autres préparations utilisées en culture artificielle. Il apporte au système des caractéristiques physiques de pH, de structure, d'humidité, de température et des nutriments. Les expériences de VERONA (1963) montrent que ces derniers ont, du moins *in vitro*, une influence considérable, voire décisive, sur la nature de la microflore qui envahit la spermosphère.

b) Il est déterminé **par la graine elle-même** qui apporte des substances diverses.

A sa surface se trouvent des mucilages composés de polysides variés et qui peuvent être utilisés comme aliments par les micro-organismes. Ils seraient aussi capables de modifier les caractéristiques physiques de la spermosphère par leur avidité pour l'eau et leur influence floculante sur les colloïdes minéraux. Enfin ils pourraient agglutiner certaines Bactéries.

Lorsque la graine s'imbibe, elle laisse diffuser des produits très variables selon son âge et son espèce et suivant les conditions du milieu. On y trouvera, comme dans la rhizosphère et la phyllosphère, des sources de C et d'N et aussi des substances biologiquement actives, les unes stimulantes (vitamines), les autres inhibitrices, susceptibles d'exercer un effet électif appréciable (AMOROS et DURAND, 1964) (tableau LXXVI).

TABLEAU LXXVI. — LIBÉRATION DE SUBSTANCES SOLUBLES PAR QUELQUES GRAINES DE LÉGUMINEUSES, EN μ M PAR 100 GRAINES (d'après AMOROS et DURAND, 1964)

	N TOTAL	LYSINE	ARGININE	ACIDE ASPARTIQUE	ACIDE GLUTAMIQUE	GLYCOCOLLE	ALANINE	SÉRINE + AMIDES
Pois	96,5	1,2	10,5	4,1	19,4	8,8	7,6	13,2
Fève	1 337,0	6,4	89,6	34,0	68,8	43,4	64,0	48,5
Vesce	165,5	0,4	2,7	3,5	9,0	2,2	4,0	7,8
Haricot	687,5	2,1	15,8	42,5	33,3	11,9	57,9	36,4

2° Les populations de la spermosphère

Leur composition est, encore une fois, la composante de deux éléments d'origines différentes, la microflore des semences et celle du sol.

a) **La microflore des semences.** — Il n'est pas possible de faire état ici des nombreuses études consacrées à la mycoflore des semences en vue de connaître les

espèces parasites que ces dernières transmettent ou les saprophytes utilisables ou non à des fins de lutte biologique éventuelle.

Les Champignons des graines sont, les uns, de simples contaminants superficiels, les autres, des mycéliums infectants vivant dans les enveloppes, les téguments, voire même les embryons. A titre d'exemple on citera : *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Chaetomium*, *Penicillium*, *Aspergillus* et en outre des Mucorales, des Sphéropsidales nombreuses et des Ustilaginales.

Les Bactéries ont été moins étudiées bien que leur rôle protecteur vis-à-vis des parasites ait aussi été envisagé. Il s'agit, en général, de Bacilles longs ou courts, gram-négatifs, chromogènes ou apigmentés, tandis que les formes sporulées, les coques, les Bacilles gram-positifs et les types pléomorphiques (*Arthrobacter*), si fréquents dans les sols, sont rares mais non absents.

Les groupes physiologiques sont variés : protéolytiques, cellulolytiques, amylolytiques, fermentatifs, etc. Enfin, du point de vue nutritionnel, on remarque l'absence de germes réclamant de l'extrait de terre et la fréquence de ceux qui exigent des acides aminés additionnés ou non de substances de croissance, mais ces dernières seules ne sont jamais suffisantes.

Les avis divergent quant à la spécificité de la microflore des semences. Certains insistent sur ses analogies avec celle du sol ; d'autres pensent qu'elle varie dans ses caractères morphologiques et physiologiques suivant les espèces végétales.

En fait, la graine est soumise à tant de contaminations d'origine atmosphérique ou édaphique qu'il est pour le moment hasardeux de parler de spécificité. Par exemple, la mycoflore des graines de Cotonnier varie suivant leur origine géographique. En France, les associations fongiques des grains de Blé reflètent les conditions du milieu qui ont environné les épis tout au long du développement des caryopses (PONCHET, 1965).

b) La microflore de la spermosphère. — Lorsque la graine est semée, son peuplement superficiel est affronté à celui du sol. Au moment où elle s'imbibe, les facteurs physiques et chimiques énumérés plus haut sélectionnent sans doute certaines souches en provenance de ce double patrimoine et les espèces élues colonisent la jeune radicule. Dans les expériences de WATSON (1966), une humidité suffisante, maintenant le sol à sa capacité de rétention, favorise *Pythium* et *Fusarium*. Une période sèche ($pF \geq 3,7$) et chaude interromptue par une pluie entraîne la dominance des Actinomycètes et ceci est en relation avec une diminution du potentiel infectieux (rhizoctone, *Fusarium*, *Pythium*) ; une date de semis convenablement choisie pourrait éviter, dans une certaine mesure, la fonte des semis.

L'influence de la population superficielle des graines sur l'attaque des plantules par les Champignons parasites avait déjà été soulignée par divers auteurs : par exemple, selon TIMONIN (1964), la stérilisation des semences de Conifères réduit (*Pinus banksiana*, *Picea glauca*) ou augmente (*Pinus contorta*) le taux de fonte des semis.

LEBEN (1961), LEBEN et DAFT (1966) ont montré que les organismes colonisant la jeune plantule proviennent toujours de la population séminale ; mais les uns en sont

des constituants normaux — ici des Bactéries achromogènes et parfois des Champignons — tandis que d'autres peuvent être des contaminants apportés sur la graine par l'eau, l'atmosphère ou le sol.

c) *L'effet-graine.* — Dans la spermosphère, le nombre des micro-organismes est supérieur à celui du sol témoin, ce qui peut s'expliquer par l'excrétion d'aliments à partir de la graine (fig. 146). Diverses activités biologiques sont stimulées : solubilisation des phosphates, ammonification (urée, peptone, caséine), cellulolyse, activités catalase et saccharase (cf. VERONA, 1960). Mais il n'est pas impossible que des effets négatifs se rencontrent aussi.

II. — LA PHYLLOSPHERE

On sait depuis longtemps que les organes aériens des végétaux sont aussi porteurs d'une microflore épiphyte. LAST (1955) a désigné sous le nom de phyllosphère l'habitat particulier constitué par la surface des feuilles bien que, en toute rigueur, celui-ci soit plutôt l'homologue du rhizoplan et que le nom de phylloplan soit peut-être plus correct (KERLING, 1958). Cette question a fait l'objet d'une mise au point récente de MANGENOT (1966b).

1° Le milieu phyllosphère

Il est soumis à des conditions absolument inhabituelles pour les micro-organismes du sol :

a) *Une humidité constamment fluctuante :* au moment des précipitations, l'eau est abondante mais peut entraîner, par ruissellement, une partie des populations épiphytes. Pendant les périodes sèches, l'humidité atmosphérique peut être si faible que la croissance de la microflore en soit compromise. Cependant une feuille transpire constamment et peut créer à sa surface un microclimat un peu plus humide que l'air ambiant. Il n'en reste pas moins que, dans les régions tempérées ou sèches, les conditions sont telles que la population de la phyllosphère doit, sans doute, traverser de longues périodes de repos. Au contraire, sous les tropiques humides, l'atmosphère saturée

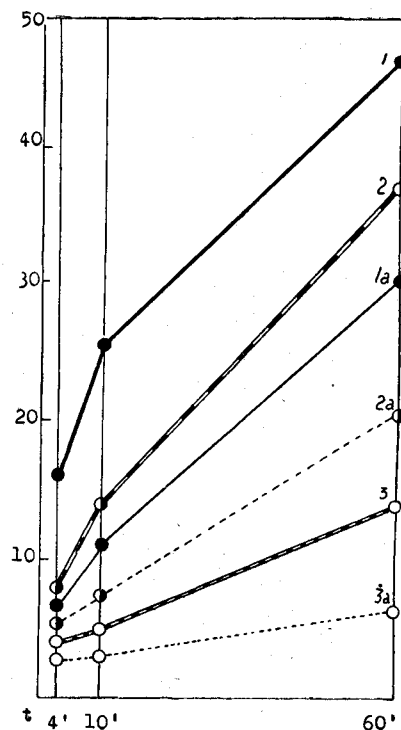


FIG. 146. — *Activité catalasique de trois sols en présence (1, 2, 3) de semences en germination ou non ensemencés (1a, 2a, 3a). (L'activité est exprimée en ml de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,5 N/g de terre) (VERONA, 1960).*

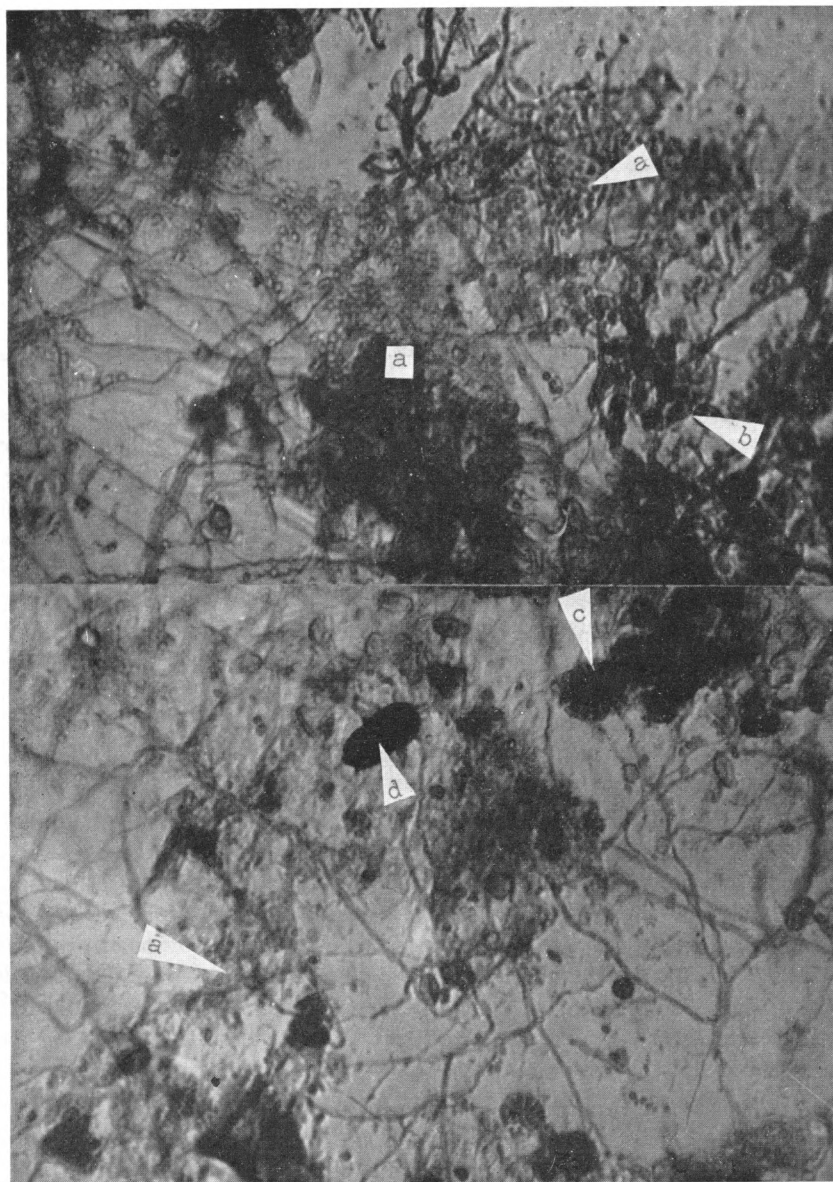


FIG. 147. — Aspect d'un film de collodion contenant une partie des éléments de la phyllosphère d'une feuille de *Citrus* récoltée en Guyane Hollandaise. En a, *Azotobacter* accompagnés, au centre du cliché, d'Algues ; en b, *Trentepohlia* sp. ; en c, un jeune thalle de *Phycopeltis* (photo due à l'obligeance du D^r RUINEN, 1961).

autorise un développement luxuriant d'organismes variés (RUINEN, 1961) formant une pellicule mucilagineuse de quelque 20 μm d'épaisseur où des Protozoaires cheminent parmi les Algues, les Bactéries et les hyphes fongiques ; avec le temps, des macro-épiphytes peuvent même s'installer (fig. 147).

b) L'intensité lumineuse plus ou moins forte à laquelle la feuille est soumise expose les micro-organismes à l'effet nocif des radiations UV.

c) La température présente des fluctuations constantes, non seulement suivant la saison, mais d'une heure à l'autre et selon l'exposition de la feuille.

L'ensemble de ces facteurs physiques agit directement sur la composition de la microflore épiphyte, mais intervient aussi de façon indirecte pour déterminer la composition et l'abondance des aliments dont celle-ci dispose. Par exemple, une forte intensité lumineuse augmente l'excrétion foliaire des glucides alors que les précipitations diluent les exsudats et provoquent un lessivage intense des aliments contenus dans la feuille.

d) Composition chimique. — La composition des exsudats foliaires est variable suivant les espèces et l'âge de la plante ou de ses organes, suivant aussi son état de santé ou de nutrition. Ainsi l'Oranger ou la Betterave, dont les feuilles sont peu mouillables, sont, aussi, peu lessivés, alors que le Bananier ou le Caféier laissent échapper davantage de matière sèche. Les individus croissant dans de mauvaises conditions exsudent relativement plus d'aliments qu'une plante bien approvisionnée.

Les exsudats foliaires contiennent des éléments inorganiques, des sucres solubles, des acides du cycle de KREBS, des polyalcools, des glucosides, des composés pectiques, des acides aminés (RUINEN, 1965). On y rencontre encore certainement des substances de grande activité biologique (vitamines, acides phénols, flavonoïdes), mais dont la concentration reste sans doute faible car elles sont ou bien délavées par les pluies ou bien oxydées sur place, ce qui entraîne leur inactivation.

Si l'on excepte cette dernière catégorie de produits, sur lesquels nous sommes encore assez mal renseignés, les variations dans la composition des exsudats paraissent limitées : elles intéressent les éléments inorganiques, les proportions des divers sucres et les acides carboxyliques.

Il n'est donc pas surprenant que les microflores épiphytes dépendent plus, semble-t-il, des facteurs climatiques et microclimatiques que de la nature de la plante. Par contre, l'âge et l'état de santé de celle-ci ont une influence capitale dont nous verrons les manifestations en étudiant la dynamique de la phyllosphère.

2° Les populations de la phyllosphère

Il est bien évident que la feuille représente une aire d'atterrissage sur laquelle doivent se déposer des propagules extrêmement variées : cellules des Bactéries ou des

Levures, conidies sèches des Champignons, spores des Ascomycètes et des Basidiomycètes, etc. Mais la plupart d'entre elles ne semblent pas en mesure d'entrer en activité. On qualifie avec LEBEN (1965) ces étrangers de « casuels », qu'il s'agisse de spores dormantes ou bien d'organismes colonisant les débris en décomposition à la surface de la plante ou les déjections des Insectes. Seuls sont considérés comme appartenant à la microflore épiphyllie, les « habitants » qui paraissent se développer sur la feuille et se nourrir des substances que celle-ci excrète spontanément.

On ne sera donc pas étonné de rencontrer des peuplements assez uniformes dans les phyllosphères de végétaux variés : ce sont les mêmes espèces pigmentées qui forment le gros de la population sous tous les climats et sur les plantes les plus diverses. Cependant, des différences de détail doivent exister (RUINEN, 1961 ; LAST et DEIGHTON, 1965 ; KERLING, 1964, etc.).

Les Bactéries sont principalement représentées par des Bacilles courts gram-négatifs, chromogènes, jaunes ou oranges (*Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*) constituant 90 à 95 % du peuplement. Les Bactéries gram-positives sont moins nombreuses ou absentes. Quant aux Actinomycètes, ils font toujours défaut.

Les Levures comprennent souvent des formes roses (*Rhodotorula* et *Sporobolomyces*) mais les *Cryptococcus* sont parfois dominants. Enfin sur les organes vieillissants, les *Tilletiopsis*, ballistosporés, deviennent de plus en plus nombreux.

Parmi les Champignons, si l'on excepte certaines formes spécifiques tendant au parasitisme, on retrouve quelques genres, toujours les mêmes : *Alternaria*, *Cladosporium*, *Epicoccum* et les « Levures noires », *Aureobasidium* (= *Pullularia*) *pullulans*.

L'influence de la lumière s'exprime nettement : les Champignons fuligineux sont protégés contre l'action des rayons UV par leurs mélanines et les caroténoïdes des Levures comme des Bactéries jouent un rôle semblable et pourraient, en outre, se comporter comme récepteurs d'énergie (LAST et DEIGHTON, 1965).

Mais au début de la croissance de l'hôte, les Bactéries incolores peuvent être dominantes (STOUT, 1964) et les mycéliums hyalins sont parfois plus abondants dans un sous-bois clair que dans une forêt obscure.

Les expériences de LEBEN et DAFT (1964) semblent montrer que les Bactéries épiphyllies sont exigeantes et réclament en majorité des facteurs de croissance (acides aminés, vitamines, extrait de Levure).

DIEM (1967) a soumis la population des feuilles d'Orge aux méthodes classiques d'étude des fonctions du sol : toutes les souches bactériennes sont ammonifiantes, les protéolytiques et amylolytiques sont rares et les pectinolytiques relativement tardifs (tableau LXXVII). On connaît encore l'activité lipolytique de nombreuses Levures épiphyllies, en particulier des *Sporobolomyces* (RUINEN et DEINEMA, 1964).

La présence de fixateurs d'N atmosphérique a été signalée d'abord par NOVIKOVA (1955) : il s'agirait, en URSS, de *Pseudomonas* aussi actifs que certaines souches d'*Azotobacter*, mais ces derniers ne peuvent même pas se maintenir après inoculation. Le phénomène semble beaucoup plus important sous les tropiques humides (Asie, Afrique, Amérique) où les feuilles de diverses espèces portent en grand nombre des *Beijerinckia* ou des *Azotobacter* (LAST et DEIGHTON, 1965).

TABLEAU LXXVII. — VARIATIONS DE LA POPULATION ÉPIPHYLLE DE L'ORGE
AU COURS DE LA SAISON
(DIEM, 1967)

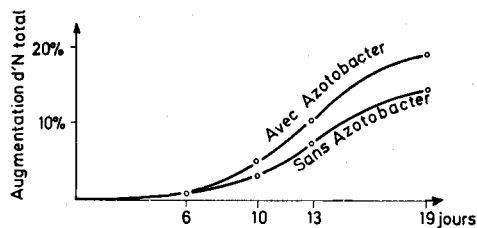
	FEUILLES VERTES			FEUILLES MORTES	
	Mai S	Juin S C		Juillet S C	
Microflore totale/cm ²	882	44	79 000	18 000	8 000 000
En % de la microflore totale					
Ammonifiants	100	100	100	44	40
Dénitrifiants	0	0	0	0	0
Amylolytiques	6	12	2	< 1	< 1
Protéolytiques	2	0	1	0	< 1
Pectinolytiques/cm ²		15	47	1 170	13 000
S : en pleine lumière C : au centre d'un champ .					

Les Bactéries fixatrices reçoivent de la plante des sources de C et font la synthèse de constituants azotés qui sont mis à la disposition de la population épiphyllé et même de la feuille, au moins lorsque celle-ci est détachée (fig. 148). Mais il n'est pas rigoureusement démontré que la végétation en bénéficie dans les conditions naturelles.

Enfin on signalera la fréquence assez élevée des souches bactériennes productrices d'antibiotiques (43 %) (LEBEN et DAFT, 1966 ; STOUT, 1962) agissant soit sur certains Champignons phytopathogènes, soit sur les Bactéries tests habituelles.

Il faut reconnaître, pour conclure, que les interactions au niveau de la phyllosphère sont encore très mal connues du fait du petit nombre des recherches accomplies et de l'extraordinaire diversité des écosystèmes : les climats et microclimats, les espèces végétales, les modes d'exploitation du sol, les sources d'inoculum sont autant de facteurs dont les combinaisons sont quasi innombrables.

FIG. 148. — Accumulation d'N dans des feuilles détachées de Haricot avec et sans inoculation par *Azotobacter* (RUINEN, 1965).



III. — DYNAMIQUE DES POPULATIONS ÉPIPHYTES

On en est réduit, en ce domaine, à formuler des hypothèses probables.

1° Origine

Nous avons appris comment la population de la spermosphère dérivait des organismes présents sur la semence. Lorsque la plantule se développe, en milieu aseptique, tous ses organes, racine, axe, feuilles, sont envahis par ce même peuplement. Si l'on tente, plus tard, d'inoculer une espèce étrangère à une plante âgée de quelques semaines, on aboutit à un échec (LEBEN et DAFT, 1966). Aussi VOZNAKOVSKAJA et KHUDJAKOV (1960) considèrent-ils que la microflore épiphyte est déterminée par celle de la semence (graine ou tubercule) dont la plante est issue ou par celle du bourgeon chez les arbres. Elle ne serait pas spécifique, mais conditionnée par les facteurs du milieu.

Lorsque la plante se développe, que ses organes se différencient et vieillissent, les conditions des milieux épiphytes se transforment profondément ; tout autre est la surface d'une racine engainée de liège, entourée par le sol, et celle d'une feuille recouverte d'une simple cuticule et soumise aux fluctuations atmosphériques. Le peuplement de la plantule fait place, dans des conditions imparfaitement connues, à celui de la rhizosphère et de la phyllosphère adultes. Mais il semble bien que cette substitution n'entraîne pas une disparition totale des premiers coloniseurs.

2° Essai de définition de la dynamique de la microflore épiphyte

Nous ne reviendrons pas ici sur les problèmes particuliers de la rhizosphère (cf. ch. III).

a) **Les facteurs nouveaux.** — L'âge de la feuille et de la plante entière est un facteur essentiel de la dynamique de la phyllosphère. La composition chimique des tissus varie suivant les stades de développement de l'individu, aussi bien en ce qui concerne sa richesse en sucres, en N, en acides, que du point de vue des constituants secondaires biologiquement actifs et si mal connus.

De plus, la perméabilité des épidermes varie dans le temps ; la cuticule se dépose seulement pendant la phase de croissance de la feuille ; ensuite les fissures, les lésions d'origine chimique (par exemple, sous l'action des Levures lipolytiques) ne sont plus réparées.

Enfin lorsque les organes entrent en sénescence, la semi-perméabilité de leurs membranes cellulaires s'altère pour finalement s'annuler à la mort des tissus. Il y a ainsi des variations qualitatives et quantitatives qui s'accompagnent de modifications, elles

aussi qualitatives et quantitatives, de la microflore épiphyllle. Elles ne se manifestent peut-être pas toujours avec une netteté parfaite parce que les facteurs nutritionnels ne sont pas seuls en cause, mais certains changements sont si marqués qu'il est impossible de les mettre en doute.

b) *De la plantule à l'organe adulte.* — La population initiale qui, nous l'avons dit, est souvent caractérisée par la présence de Bactéries achromogènes accompagnées ou non de Champignons, s'enrichit, dans des conditions mal connues, de nouveaux habitants, à la suite de contaminations atmosphériques.

En tout cas, dans la mesure où ils ont été identifiés, ils sont étrangers à la microflore du sol ; c'est, par exemple, le cas des Levures (DI MENNA, 1960) ; les *Sporobolomyces* prolifèrent sur des organes relativement âgés, par exemple, sur les feuilles de Blé quand elles ont atteint la moitié de leur durée de vie (LAST, 1955) ; ils sont absents des jeunes feuilles et leur nombre augmente, semble-t-il, à partir de juin (MANGENOT, 1966b). C'est à cette même époque que KERLING (1964) voit apparaître les Champignons sur les feuilles d'Orge. Les *Tilletiopsis* paraissent encore plus tardifs.

La composition de ce peuplement varie en qualité et en quantité suivant les facteurs climatiques. Une humidité réduite, de sorte que le point de rosée ne soit plus atteint, favorise les Champignons filamenteux aux dépens des Bactéries et des Levures (STOUT, 1964). La sécheresse pourrait entraver la prolifération de la microflore épiphyllle, mais les minimums numériques semblent à KERLING (1964) coïncider avec les périodes pluvieuses délavant les feuilles.

c) *Sénescence.* — Le nombre des micro-organismes épiphylls augmente parfois de façon brusque lorsque la feuille jaunit et, en tout cas, à sa mort (LAST, 1955 ; KERLING, 1958) et certains groupements physiologiques ou systématiques (pectinolytiques, cellulolytiques, Levures, Champignons) prennent un développement explosif (KERLING, 1964). En même temps, les organismes jusque-là superficiels pénètrent dans les tissus nécrosés et s'y maintiennent ensuite plus ou moins longtemps. Par exemple, les Bactéries chromogènes qui représentaient 90 % de la population épiphyllle constituent encore 40 % de celle des feuilles mortes après 40 jours et 5 % seulement à 80 jours. En présence de sol, leur élimination est encore plus rapide sous l'effet des actions antagonistes multiples exercées par la microflore tellurique.

CONCLUSION. — Les phénomènes qui se déroulent au niveau de la phyllosphère intéressent au premier chef le phytopathologiste ou l'agronome qui pourrait peut-être, un jour, fournir un supplément d'N aux cultures en leur inoculant des fixateurs épiphytes ou les protéger contre les maladies parasitaires ; mais ce sont là des espoirs à échéance lointaine.

Par contre, la microflore épiphyllle est en relation avec celle du sol : elle peut lui fournir des aliments de façon directe après les pluies ou à la chute des feuilles. Elle modifie sans aucun doute les exsudats végétaux et, en particulier, les oxyde en donnant des substances brunes. Enfin elle est à l'origine des premières populations des litières qui atteignent toujours le sol déjà colonisées et en partie transformées.

CHAPITRE III

LA RHIZOSPHERE

Les interactions entre les végétaux et les micro-organismes telluriques se manifestent avec une intensité accrue dans la zone du sol qui est en contact avec les racines. A l'intérieur de cette zone particulière, appelée *rhizosphère*, la microflore tellurique est profondément modifiée, notamment sous l'influence des exsudats racinaires et des apports de débris tissulaires. Ces modifications consistent dans une stimulation préférentielle souvent considérable — ou parfois dans une inhibition — de certains secteurs de la microflore ou de certaines espèces microbiennes.

Inversement, les micro-organismes stimulés agissent sur la plante en mettant à sa disposition des *molécules organiques* absorbables par les racines (molécules aminées, glucidiques, auxiniques, vitaminiques, antibiotiques) ou en améliorant sa *nutrition minérale* par solubilisation ou minéralisation de certains éléments. Enfin « dans cette zone d'hyperactivité, les micro-organismes réagissent entre eux : les phénomènes de satellitisme, de synergie ou au contraire d'antagonisme par compétition nutritive ou par antibiotisme qui se manifestent alors peuvent avoir des conséquences importantes en phytopathologie » (POCHON, 1964). Ces interactions très complexes en raison de la multitude des facteurs impliqués sont elles-mêmes sous la dépendance des conditions particulières de l'environnement.

Parmi les revues les plus récentes concernant la rhizosphère, on signalera celles de POCHON (1963), KATZNELSON (1965), MACURA (1965, 1966, 1968), ROVIRA (1965, *a et b*), PARKINSON (1967). On consultera également avec profit les comptes rendus du symposium de Prague (MACURA et VANČURA, 1965) et ceux du colloque de l'Institut Pasteur (POCHON, 1966).

Il est facile de donner une définition théorique de la rhizosphère : c'est la zone du sol dans laquelle la microflore tellurique subit l'influence des racines. Mais en fait, la rhizosphère est un microhabitat dont les limites sont très mal définies, car il présente un gradient microbiologique allant de la racine elle-même au contact de laquelle la microflore présente les modifications les plus marquées à une distance plus ou moins

grande (1 à 5 mm) où l'effet rhizosphérique disparaît. On considère, en général, deux parties dans la rhizosphère :

a) La *rhizosphère* proprement dite (*rhizosphère sensu stricto*), qui correspond à la fine couche de sol qui « adhère fermement » aux racines, mais qui peut être enlevée par un lavage et une agitation modérée dans l'eau. On subdivise parfois la rhizosphère en : rhizosphère proche et rhizosphère éloignée.

b) Le *rhizoplan* ou surface des racines, dont la microflore est extraite par agitation vigoureuse des racines préalablement lavées et agitées modérément en vue de l'étude de la rhizosphère.

Dans le cas des racines âgées, on distingue, en outre, une *zone rhizosphérique intraracinaire* car les tissus corticaux des racines sont pénétrés progressivement par les hyphes fongiques au fur et à mesure du vieillissement de la plante (TAYLOR et PARKINSON, 1965).

Sauf indication contraire, le terme rhizosphère sera employé ici dans son acception large, à savoir l'ensemble de la rhizosphère et du rhizoplan.

A. — MÉTHODES D'ÉTUDE DE LA RHIZOSPHERE

Pour étudier l'effet rhizosphérique, il est, bien entendu, nécessaire de disposer de plantes vivantes. L'on peut cultiver celles-ci dans des conditions plus ou moins artificielles :

- sur gélose ou gel de silice ;
- en milieu liquide : cultures hydroponiques ou cultures sans sol (voir, par exemple, CHALVIGNAC, 1966) ou en aérosols (CLAYTON et LAMBERTON, 1964) ;
- dans des modèles de sol (KHAU VAN KIEN, 1966) ;
- dans le sol lui-même :
 - soit en pot (voir, par exemple, DÉNARIÉ et BLACHÈRE, 1966),
 - soit en plein champ (voir, par exemple, PUGH et DICKINSON, 1963).

Pour l'étude des exsudats racinaires, il est souvent nécessaire de faire appel à des cultures aseptiques de plantes, ce qui n'est d'ailleurs pas sans présenter de sérieuses difficultés (ROVIRA, 1965b) ; mais des progrès sensibles ont été accomplis récemment dans ce domaine (voir, par exemple, BARBER, 1967).

Pour l'étude microbiologique, les chercheurs utilisent l'une ou l'autre des techniques dont on dispose actuellement et parmi lesquelles nous signalerons plus particulièrement les techniques culturales, les techniques microscopiques, les techniques enzymatiques et respirométriques, les techniques autoradiographiques.

1° Techniques culturales

a) NUMÉRATIONS

a) **Rhizosphère sensu stricto.** — Les numérations de micro-organismes sont effectuées à la fois à partir de suspensions-dilutions du sol qui adhère fermement aux racines (sol rhizosphérique) et à partir de suspensions-dilutions du sol qui n'est pas en contact avec les racines (sol témoin).

Dans le cas de cultures en pot, l'on peut admettre que le sol témoin est le sol des pots sans plantes et que le sol rhizosphérique n'est autre que le sol des pots plantés à la condition que les plantes soient très serrées (DÉNARIÉ et BLACHÈRE, 1966 ; VOETS et DEDEKEN, 1966). *L'intensité de l'effet rhizosphérique* est alors mesurée par le rapport R/S ou rapport de la densité des micro-organismes dans la rhizosphère (R) à la densité des micro-organismes hors de la rhizosphère, c'est-à-dire dans le sol témoin (S). Malheureusement, la valeur du rapport R/S est sensible aux conditions opératoires : c'est ainsi que des manipulations conduisant à une augmentation de la quantité de sol considéré comme adhérent « fermement » aux racines entraîne une diminution du rapport R/S ; de même, une agitation excessive peut détacher du rhizoplan des micro-organismes qui sont alors inclus dans la microflore rhizosphérique. Il est donc dangereux de comparer les R/S obtenus par différents chercheurs ; en outre, dans le cadre des recherches effectuées dans un même laboratoire, il sera prudent de comparer seulement : 1° des espèces végétales dotées de systèmes racinaires semblables ; 2° des résultats analytiques portant sur des échantillons de sol caractérisés sensiblement par le même rapport poids de sol/ poids de racines.

b) **Rhizoplan.** — *L'intensité de la colonisation du rhizoplan* s'exprime en général par la densité des micro-organismes par gramme de racines, soit R_0 . La comparaison des densités microbiennes du rhizoplan (R_0) peut porter sur différentes parties d'un même système racinaire ou sur des systèmes racinaires de morphologie voisine appartenant à des espèces végétales différentes. Bien entendu, il est impossible de comparer les densités microbiennes du rhizoplan (R_0) aux densités microbiennes du sol témoin (S).

b) AUTRES MÉTHODES DE CULTURE

Les méthodes de numération que l'on vient d'évoquer favorisent les micro-organismes à croissance rapide ou sporulant abondamment ; pour éviter cet inconvénient on utilise pour les Champignons la méthode de HARLEY et WAID (1955a), qui consiste à placer sur les milieux gélosés des fragments de racines bien lavés et à faire des isollements à partir des extrémités hyphales qui se développent. Cette méthode a été très utile dans l'étude qualitative de Champignons étroitement associés aux racines (PARKINSON, 1965).

On sait que les méthodes culturales présentent toutes le défaut de ne mettre en évidence qu'une fraction de la microflore totale (parfois seulement 2 à 10 %) ; mais,

il faut le reconnaître, ce sont ces méthodes qui ont permis d'asseoir la majeure partie de nos connaissances actuelles sur la composition des micropopulations de la rhizosphère et du rhizoplan.

π

2° Techniques microscopiques

La microscopie optique donne des résultats très satisfaisants en lumière blanche (PARKINSON et coll., 1963) ou en fluorescence (ZVYAGINTSEV, 1962b ; TROLLDENIER, 1965). *Quant à la microscopie électronique*, son emploi est relativement récent, mais les travaux de JENNY et GROSSENBACHER (1963) et DART et MERCER (1964) laissent déjà espérer que cette technique rendra de grands services dans l'avenir.

3° Techniques manométriques et enzymatiques

On a utilisé avec succès les méthodes manométriques pour comparer l'activité biologique dans la rhizosphère et hors de la rhizosphère en présence ou non de différents substrats en vue de l'étude de transformations biologiques diverses intéressant le cycle de l'azote et du carbone (cf., par exemple, KATZNELSON et ROUATT, 1957). On a également appliqué à l'étude de la rhizosphère des méthodes enzymatiques qui ont mis en évidence une accumulation locale souvent importante de ces catalyseurs biologiques (cf., par exemple, ESTERMANN et McLAREN, 1961).

4° Autoradiographie

La technique autoradiographique, encore peu employée, est susceptible d'applications intéressantes dans le domaine de l'étude des exsudations racinaires et des micropopulations rhizosphériques (KHAU VAN KIEN, 1966).

B. — INFLUENCE DE LA PLANTE SUR LES MICRO-ORGANISMES

I. — COMPOSITION DES MICROPOPULATIONS DE LA RHIZOSPHERE ET DU RHIZOPLAN

1° Bactéries

Les Bactéries sont, en général, plus fortement stimulées par l'effet rhizosphérique que les Actinomycètes, Champignons, Algues ou Protozoaires. Le tableau LXXVIII

TABLEAU LXXVIII. — EFFET RHIZOSPHERIQUE DU BLÉ
SUR DIVERS GROUPES MICROBIENS
(KATZNELSON et coll., 1956)

GROUPE MICROBIEN	DENSITÉ DES MICRO-ORGANISMES		R/S
	Hors de la rhizosphère	Dans la rhizosphère	
Microflore bactérienne totale	52 700 000	1 121 000 000	21,0
Champignons	120 000	1 160 000	9,6
Protozoaires	990	2 410	2,4
Algues	26 900	4 500	0,2
Bactéries nitrifiantes	100 000	100 000	1,0
Bactéries sporulées	575 000	927 000	1,6
Bactéries cellulolytiques aérobies	2 700	720 000	6,0
Bactéries cellulolytiques anaérobies	120 000	9 100	3,4
Bactéries anaérobies	33 000	389 000	11,8
Bactéries ammonifiantes	1 800 000	> 100 000 000	> 50,0
Bactéries dénitrifiantes	140 000	12 650 000	90,0

illustre bien ce fait. On admet en général que ce sont essentiellement les Bactéries non sporulées gram-négatives (par exemple, *Agrobacterium* ou *Pseudomonas*) qui sont les plus favorisées dans la rhizosphère.

a) EFFET RHIZOSPHERIQUE SUR LES DIFFÉRENTS GENRES OU ESPÈCES

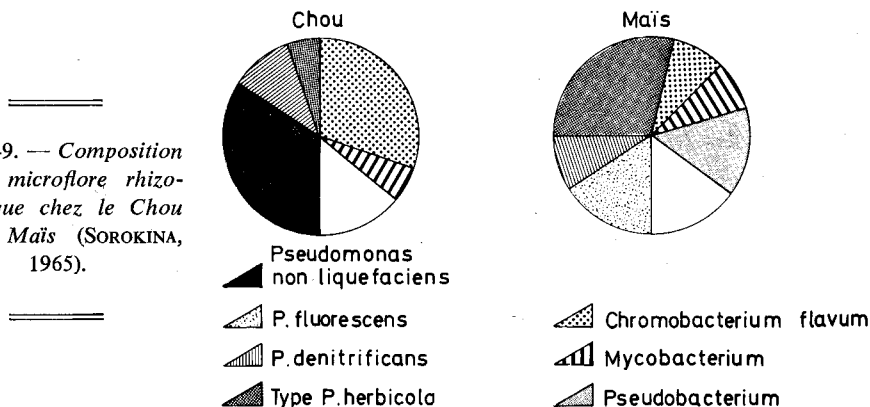
Dans la rhizosphère, les *Pseudomonas* sont souvent plus nombreux que les *Arthrobacter* ; cette prédominance des *Pseudomonas* pourrait s'expliquer : 1° par leur taux de croissance rapide et une latence réduite ; 2° par leur aptitude à produire des substances inhibitrices par leur acidité au cours de leur métabolisme glucidique ; 3° par la synthèse de pigments fluorescents fréquemment inhibiteurs vis-à-vis d'autres espèces bactériennes et notamment de certains *Arthrobacter* (CHAN et KATZNELSON, 1961). Les différentes espèces du genre *Pseudomonas* ne sont pas stimulées dans les mêmes proportions chez les différentes plantes. C'est ainsi que la rhizosphère du Chou abrite un fort pourcentage de *Pseudomonas non-liquefaciens* alors que le Maïs favorise plutôt *P. herbicola* et *P. fluorescens* (fig. 149).

L'utilisation de milieux convenables et l'observation microscopique montrent que les formes filamenteuses se ramifiant sont très fréquentes à la surface des racines : il s'agit à la fois de Bactéries (*Corynebacterium*) et d'Actinomycètes (*Mycobacterium*, *Nocardia*).

En règle générale, le genre *Bacillus* n'est pas particulièrement favorisé dans la rhizosphère ; on y a toutefois signalé la présence de *B. brevis*, *B. circulans*, *B. polymyxa*.

L'effet rhizosphérique se traduit par un accroissement très net de la densité d'*Agrobacterium radiobacter*.

FIG. 149. — Composition de la microflore rhizosphérique chez le Chou et le Maïs (SOROKINA, 1965).



En ce qui concerne le genre *Azotobacter*, on constate que l'effet rhizosphérique est très variable suivant les espèces végétales :

1° De nombreuses plantes sont sans effet sur l'*Azotobacter* ou n'exercent pas d'effet significatif (voir, par exemple, KATZNELSON et STRZELCZYK, 1961) ;

2° D'autres s'avèrent favorables ; citons à titre d'exemple le Trèfle et la Vesce (VANČURA et coll., 1965) ;

3° D'autres enfin inhibent ce micro-organisme : citons, par exemple, *Chelidonium*, *Ephedra distachya* (DASTE, 1958) ;

4° Il faut enfin ajouter que, suivant son stade de développement (cf. p. 556), les conditions écologiques (cf. p. 578) ou le degré d'adaptation des souches d'*Azotobacter* à une rhizosphère donnée, une même plante peut se montrer défavorable, favorable ou sans effet sur les *Azotobacter*. C'est ce que constate effectivement RIVIÈRE (1959) avec la variété de Blé qu'il étudie : au moment du tallage, le rapport R/S atteint 20 à 40 deux saisons de suite ; mais l'effet rhizosphérique n'est plus significatif en dehors de ce stade bien particulier du développement du Blé.

Beijerinckia indica prolifère abondamment dans la rhizosphère de la Canne à sucre dans les sols ferrallitiques du Brésil : pour la rhizosphère éloignée, les R/S s'échelonnent entre 2 et 23 ; pour la rhizosphère proche, les valeurs extrêmes sont 14 et 26 (DÖBEREINER, 1961). *B. indica* est également favorisé par de nombreuses espèces fourragères dont des *Digitaria*, *Cynodon*, *Paspalum*, *Setaria* (RUSCHEL et DÖBEREINER, 1965).

On admet, généralement, que les Légumineuses exercent un effet stimulant très marqué sur les *Rhizobium*. Les résultats de cultures de plantules de Légumineuses sur gélose ont effectivement montré l'existence de populations très denses dans la rhizosphère : 10^2 à 10^7 cellules microbiennes/ml (NUTMAN, 1957) ; mais on est moins bien renseigné sur l'importance de la stimulation effective des *Rhizobium* dans le sol, où ils se trouvent en compétition avec la microflore tellurique. On a cependant montré que, dans le sol, les Légumineuses stimulent plus activement les *Rhizobium* que

les non-Légumineuses. Ainsi, pour *Rhizobium trifolii*, les rapports R/S s'établissent entre 8 et 200 dans la rhizosphère de *Trifolium pratense*, contre 6 à 13 dans celle de *Paspalum dilatatum*, qui est une Graminée (ROVIRA, 1961). Dans la rhizosphère de la Légumineuse *Astragalus sinicus*, les rapports R/S atteignent 3 000 à 10 000 pour les *Rhizobium* alors qu'ils sont seulement de 100 à 400 pour la microflore totale : il y a donc bien stimulation préférentielle des *Rhizobium*, qui représentent alors 1 à 10 % de la micropopulation rhizosphérique totale.

Les *Clostridium* sont souvent favorisés dans certaines rhizosphères comme celles du Lupin, du Pois, du Pavot, du Radis (STRZELCZYK, 1958).

Les quelques exemples que nous venons de donner montrent déjà qu'il n'existe pas de lois générales simples relatives à la composition des micropopulations rhizosphériques.

b) EFFET RHIZOSPHÉRIQUE SUR LES GROUPES NUTRITIONNELS DE BACTÉRIES

Pour mieux comprendre les interactions entre les plantes et la microflore rhizosphérique, LOCHHEAD et ses collaborateurs ont cherché à déterminer les besoins nutritionnels des Bactéries de la rhizosphère. Dans ce but, ils ont isolé un très grand nombre de souches sur un milieu non sélectif (gélose à l'extrait de terre) et ont ensuite ensémené chacune d'entre elles sur une gamme de milieux de complexité croissante permettant de classer les micro-organismes en sept groupes, dont les trois principaux sont les suivants :

1° les Bactéries qui ont une croissance normale sur un *milieu simple* (sels minéraux et glucose) ;

2° les Bactéries qui nécessitent des *acides aminés* ;

3° les Bactéries qui nécessitent des *facteurs de croissance* (surtout *vitamines du groupe B*).

Il résulte de nombreux travaux que le pourcentage des Bactéries du groupe (2°), c'est-à-dire des Bactéries exigeantes en acides aminés, est souvent plus élevé dans la rhizosphère qu'en dehors. Mais ce n'est pas toujours le cas.

c) EFFET RHIZOSPHÉRIQUE SUR LES BACTÉRIES À CROISSANCE RAPIDE

Il semble que la rhizosphère favorise électivement les Bactéries à croissance rapide (CHALVIGNAC, 1966).

2° Actinomycètes

Les examens microscopiques directs révèlent l'existence d'une micropopulation d'Actinomycètes importante à la surface des racines, où ces micro-organismes jouent vraisemblablement un rôle de premier plan. Ce sont essentiellement les propriétés antagonistes des Actinomycètes qui ont été étudiées dans la rhizosphère. Les souches

antagonistes des Bactéries et Champignons sont parfois stimulées (ROUATT et coll., 1951 ; VENKATESAN, 1962).

3° Champignons

Les techniques de numération montrent généralement un effet rhizosphérique positif pour les Champignons ; mais, sauf exceptions, cet effet est moins spectaculaire que pour les Bactéries. ROVIRA (1965b) fait remarquer à ce propos que si l'on évaluait l'effet rhizosphérique en fonction de la masse cellulaire et non en fonction du nombre de cellules ou de propagules, l'effet rhizosphérique s'avérerait probablement plus favorable pour les Champignons que pour les Bactéries.

De grands progrès dans la connaissance de la rhizosphère fongique ont été réalisés grâce à l'emploi de la technique de HARLEY et WAID, évoquée page 550. Cette technique a permis de démontrer l'existence d'une succession bien précise de Champignons sur les racines en voie de développement (PARKINSON et coll., 1963) : à la colonisation initiale désordonnée par de nombreuses espèces fongiques succède une colonisation stable qui est le fait d'espèces spécialisées et qui, bien entendu, dépend à la fois de la plante et du sol. Au fur et à mesure du vieillissement des racines, le tissu cortical est colonisé de plus en plus profondément par les Champignons qui atteignent même la stèle interne (tableau CI). Parmi les genres les plus fréquemment rencontrés, on citera en premier lieu *Fusarium* et *Cylindrocarpon*, dont l'abondance semble bien caractéristique de la rhizosphère. D'autres genres sont également présents, parmi lesquels on signalera : *Mucor*, *Rhizopus*, *Penicillium*, *Rhizoctonia*, *Phoma*, *Gliocladium*.

Les Levures de la rhizosphère ont été encore peu étudiées (BAB'EVA et SAVEL'EVA, 1963). Quant aux exigences nutritionnelles des Champignons de la rhizosphère, elles sont encore très mal connues et n'ont pas fait l'objet de recherches importantes comme cela a été le cas pour les Bactéries.

II. — SPÉCIFICITÉ DE L'EFFET RHIZOSPHERIQUE

Chaque plante induit un effet rhizosphérique qui est caractéristique de son espèce ou de sa variété.

On a donné plus haut deux exemples de l'influence de l'espèce végétale sur la composition bactérienne de sa rhizosphère, l'un porte sur les *Pseudomonas* (fig. 149), l'autre sur les *Azotobacter* (p. 553).

En ce qui concerne les différences qui séparent les micropopulations rhizosphériques de diverses variétés d'une même espèce végétale, on citera d'abord l'étude faite par BUXTON (1957) ; comparant le comportement de *Fusarium oxysporum* f. *pisi* dans les rhizosphères de plusieurs variétés de Pois, ce chercheur a montré que la germination de spores de *Fusarium* est inhibée par les extraits racinaires des variétés résistantes de Pois, alors qu'elle est stimulée dans le cas de variétés sensibles. De même STRZELCZYK

(1963) met en évidence des différences nettes dans la composition des micropopulations rhizosphériques de variétés de Pin et de Tabac résistantes ou sensibles au *Fusarium*.

Il suffit que les lignées d'une même espèce végétale diffèrent par un seul gène pour que leurs caractéristiques rhizosphériques ne soient plus les mêmes ; ELKAN (1962) a particulièrement bien mis en évidence ce fait en comparant une lignée de Soja nodulant normalement et une lignée presque isogénique (*near-isogenic*) ne nodulant pas ; outre les différences dans la densité microbienne totale, les deux rhizosphères sont caractérisées chacune par une répartition propre des groupes nutritionnels. On trouve des *Rhizobium* dans les rhizosphères des deux Sojas ; mais ils sont plus abondants sur les racines de la plante nodulant normalement. Chez le Soja ne nodulant pas, la nodulation est inhibée par un facteur contenu dans les exsudations racinaires.

Les publications consacrées à l'influence de l'espèce ou de la variété végétale sur la microflore rhizosphérique sont particulièrement nombreuses ; mais souvent, il est bien difficile de comparer les résultats des divers auteurs, car les effets rhizosphériques ont été observés dans des conditions généralement très éloignées, en ce qui concerne notamment :

- la plante elle-même (stade de développement, partie de la racine considérée, variété) ;
- le sol (caractéristiques physiques et chimiques) ;
- les techniques de prélèvement du sol rhizosphérique ;
- les techniques de culture microbienne.

On notera enfin que l'interprétation peut être perturbée par le mode d'expression des résultats. ROUATT et KATZNELSON (1961) ont attiré l'attention sur ce dernier point en démontrant, dans le cadre d'une même expérience : 1° que si les résultats des numérations étaient exprimés en fonction du poids de sol, les effets rhizosphériques s'établissaient dans l'ordre décroissant : Trèfle rouge > Lin > Avoine > Blé > Maïs > Orge ; 2° que si les résultats étaient exprimés en fonction du poids des racines, l'ordre était modifié comme suit : Maïs > Blé > Trèfle rouge > Avoine > Orge > Lin. La supériorité du Trèfle que l'on pouvait croire démontrée si l'on s'en tenait à la première interprétation est remise en question par la deuxième interprétation.

Il faut, en conséquence, se méfier de généralisations hâtives telles que celles qui consistent à admettre que les Légumineuses exercent toujours un effet rhizosphérique plus marqué que les non-Légumineuses.

III. — STADE ÉVOLUTIF DE LA PLANTE

Il résulte de l'ensemble des travaux publiés actuellement que la densité et la composition des micropopulations varient en fonction du stade de développement de la plante.

a) PREMIER STADE DU DÉVELOPPEMENT : GERMINATION ET DÉBUT DE CROISSANCE

C'est dès la phase de germination de la graine que la plante commence à exercer une influence sur la microflore tellurique :

1° par l'apport de nouveaux micro-organismes (qui sont ceux qui peuplent la spermosphère) ;

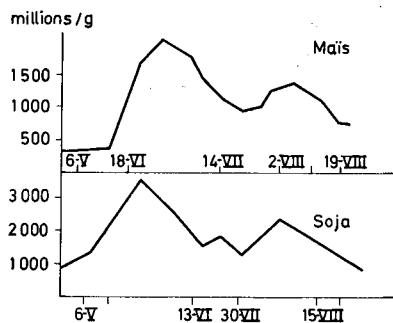
2° par l'apport des substances qui constituent l'enveloppe de la graine et par ses exsudats.

Pour certains auteurs, les micro-organismes de la graine (spermosphère) interviennent activement dans la colonisation des racines (TARDIEUX et coll., 1961) ; pour d'autres, au contraire, la colonisation de la racine se ferait par voie latérale uniquement, c'est-à-dire par le sol et non simultanément par la graine et par le sol (PARKINSON et coll., 1963).

b) STADES ULTÉRIEURS DU DÉVELOPPEMENT

Souvent, les densités maximales dans la rhizosphère correspondent à la floraison ou à la période précédant ce stade (VANČURA et HOVADÍK, 1965). Mais cette règle est loin d'être générale : le maximum de stimulation peut se situer à d'autres stades du développement du végétal, par exemple, le tallage pour le Blé (RIVIÈRE, 1959). Les densités rhizosphériques peuvent présenter plusieurs maximums (fig. 150).

FIG. 150. — Variations des densités microbiennes rhizosphériques au cours du développement de deux plantes (Maïs : en haut ; Soja : en bas) (KRASILNIKOV, 1958).



c) SÉNESCENCE DE LA PLANTE

Lorsque les racines vieillissent, l'effet rhizosphérique s'estompe et est progressivement masqué par la prolifération des micro-organismes intervenant dans la décomposition des tissus végétaux morts : donc, à ce stade, la composition des micropopulations est encore modifiée.

IV. — MÉCANISMES IMPLIQUÉS : EXSUDATION RACINAIRE, EXFOLIATION DES TISSUS, MODIFICATION DE LA COMPOSITION DE LA PHASE GAZEUSE

La plante exerce sur la microflore rhizosphérique :

1° *une action indirecte*, en modifiant les conditions générales de l'environnement dans le sol, en agissant par exemple sur la structure, le régime hydrique, l'acidité, la teneur en éléments nutritifs, la composition de l'atmosphère tellurique ;

2° *une action directe*, en exsudant des substances ou en exfoliant des tissus qui stimulent la microflore — si ce sont des sources d'énergie ou de substances de croissance — ou qui, au contraire, l'inhibent, si ce sont des substances toxiques.

Nous traiterons ici uniquement de l'exsudation racinaire, de l'exfoliation des tissus et du dégagement de CO_2 ou O_2 par les racines, les autres mécanismes ayant été évoqués antérieurement (p. 369).

1° Exsudation racinaire

Par exsudation, on désigne le processus qui aboutit à la libération par les racines des plantes de substances organiques ou minérales. Au lieu du terme exsudation, on peut utiliser celui d'exsorption (HELLER, 1965) ; les termes d'excrétion ou sécrétion parfois employés doivent être évités car ils impliquent un mécanisme physiologique actif. L'exsudation est, en fait, un processus très mal connu car les physiologistes se sont toujours plus intéressés à l'absorption des éléments nutritifs qu'au phénomène inverse.

a) MISE EN ÉVIDENCE DE L'EXSUDATION RACINAIRE

Une des méthodes les plus élégantes pour la mise en évidence des phénomènes d'exsudation racinaire consiste à effectuer des applications foliaires avec une substance marquée et à suivre l'apparition de l'élément marqué au niveau des racines.

C'est ainsi que RAKHTEENKO (1958) après avoir appliqué ^{32}P sur des feuilles d'arbres forestiers a retrouvé cet élément dans le sol à une distance de 0,25 à 2,00 m du tronc. Une preuve indirecte de l'exsudation réside dans le fait que l'application foliaire de certaines substances modifie de façon spectaculaire la microflore rhizosphérique (cf. p. 582).

b) FACTEURS RÉGISSANT L'EXSUDATION RACINAIRE

Les principaux facteurs influant sur l'exsudation racinaire sont les suivants :

1° *Les alternances de dessèchement et de réhumidification du sol*, qui accroissent l'exsudation d'acides aminés (KATZNELSON et coll., 1955), ces alternances pouvant, bien

entendu, avoir une grande importance en zone tropicale sèche ou en zone aride dans les sols irrigués.

2° *La luminosité et la température élevées*, qui activent l'exsudation.

3° *Les micro-organismes telluriques*, dont le rôle est souvent méconnu par les expérimentateurs travaillant en milieu aseptique. Les micro-organismes jouent pourtant un rôle capital ; ils interviennent de trois façons :

- en modifiant la perméabilité des cellules racinaires ;
- en modifiant le métabolisme des racines ;
- en modifiant la nature chimique des produits d'exsudation libérés par les racines.

c) NATURE DES EXSUDATS

On connaît relativement bien la nature des exsudats racinaires, qui a fait l'objet de très nombreux travaux dont on trouvera l'analyse dans les revues citées au début de ce chapitre et dans une note récente de VANČURA (1964). Mais il n'est pas possible de donner des règles générales concernant la composition qualitative des exsudats pour chaque espèce végétale. En effet, cette composition varie :

- en fonction de chaque variété, ce qui explique bien la grande spécificité de l'effet rhizosphérique ;
- en fonction du stade de développement de la plante ; VANČURA et HOVADÍK (1965) ont montré, à ce propos, que les changements les plus prononcés se manifestaient aux stades suivants : passage de la nutrition par la graine à la nutrition photosynthétique, floraison, fin de fructification ;
- en fonction des conditions culturales.

a) *Hydrates de carbone*. — On a identifié au moins 10 sucres parmi lesquels le glucose et le fructose semblent relativement les plus abondants. Signalons, en outre, la présence assez fréquente des sucres suivants : arabinose, maltose, xylose, raffinose, saccharose. L'examen au microscope — notamment au microscope électronique — a révélé sur les racines de diverses plantes (Avoine, Orge, *Medicago tribuloïdes*) l'existence d'une couche de matière mucilagineuse ou *mucigel* (fig. 151), de plusieurs microns d'épaisseur, composée, semble-t-il, de polymères de substances pectiques (JENNY et GROSSENbacher, 1963 ; DART et MERCER, 1964 ; ROVIRA, 1965 a et b). Le mucigel ne constitue pas seulement une source de substrats hydrocarbonés pour la microflore ; il modifierait aussi l'environnement rhizosphérique en fixant les enzymes d'origine végétale ou microbienne et en élargissant la zone d'échanges ioniques autour des racines.

D'après SAMTSEVICH (1965), l'extrémité des racines de Blé d'hiver et de Maïs serait recouverte d'une substance incolore riche en hémicellulose, qui représenterait 700 m³/ha (Blé d'hiver) ou 1 250 m³/ha (Maïs). Cette substance différerait du mucigel par le fait qu'elle inhiberait l'activité microbienne, alors que le mucigel est, au contraire, colonisé par les micro-organismes.

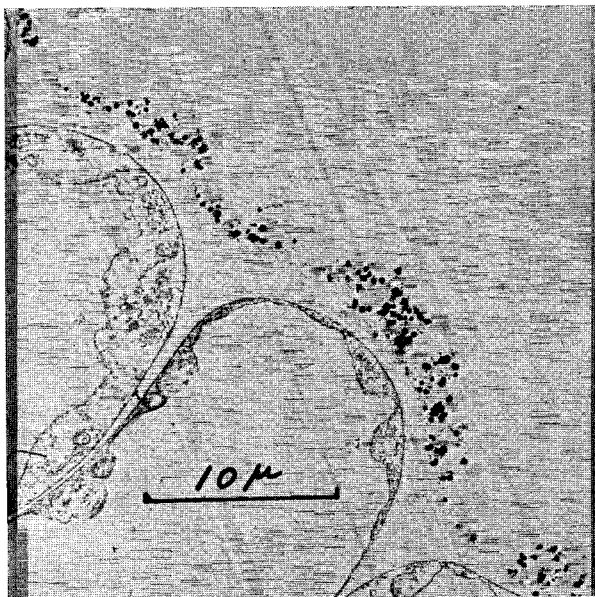


FIG. 151. — Les cellules épidermiques de la racine sont recouvertes d'une couche mucilagineuse (mucigel), dont la bordure externe est repérée, sur cette photographie au microscope électronique, par une ligne de particules d'hydroxyde de fer (JENNY et GROSSEN-BACHER, 1963).

b) Acides aminés. — Les produits d'exsudation des racines renferment de très nombreux acides aminés : leucine et isoleucine, valine, glutamine, α -alanine, β -alanine, asparagine, sérine, acide glutamique, acide aspartique, glycine, phényl-alanine, thréonine, tyrosine, proline, lysine, méthionine, cystathionine, acide γ -amino-butyrique, tryptophane. La liste de ces composés varie considérablement suivant les conditions de culture et les variétés végétales considérées.

On se contentera de donner ici, à titre d'exemple (SCHEFFER et coll., 1964) le résultat d'une comparaison entre deux plantes : le Pois et l'Avoine. Les exsudats de la première renferment essentiellement les acides aminés suivants : homosérine, thréonine, α -alanine, glutamine, asparagine, sérine, alors que les exsudats de la seconde sont composés en majeure partie de sérine, lysine et glycine.

Les données quantitatives sur la production d'acides aminés sont rares ; on signalera toutefois un travail de PAUL et SCHMIDT (1961) d'où il résulte que le sol d'une rhizosphère de Soja renferme de 2 à 4 μ g d'acides aminés libres par g de sol.

c) Vitamines. — On a isolé des exsudats racinaires une dizaine de vitamines dont les suivantes : biotine, thiamine, panthoténate, niacine, riboflavine. Si la biotine se trouve fréquemment à des concentrations suffisamment élevées pour être biologiquement active, il n'en est pas de même de diverses autres vitamines, qui sont ou absentes ou présentes à très faibles concentrations. Il est probable que les besoins en vitamines des micro-organismes telluriques exigeants sur le plan nutritionnel sont satisfaits non seulement par les exsudats racinaires mais aussi par d'autres micro-organismes rhizosphériques synthétisant des vitamines et avec lesquels ils vivent en association.

d) **Acides organiques.** — Dans les exsudats racinaires, on a mis en évidence les acides organiques suivants : formique, acétique, propionique, butyrique, valérique, glycolique, oxalique, succinique, fumarique, malique, tartrique, citrique, pyruvique, oxaloacétique. Les acides peuvent être exsudés en quantités relativement importantes ; ainsi, un seul plant de Blé peut, jusqu'au tallage, soit en six semaines, libérer 13 mg d'acide acétique, 3,5 mg d'acide propionique, 2 mg d'acide butyrique, 1,5 mg d'acide valérique (RIVIÈRE, 1959, 1960). Il est donc vraisemblable que les acides organiques des exsudats jouent un rôle important dans la rhizosphère, aussi bien en tant que substrats énergétiques pour les micro-organismes qu'en tant qu'agents acidifiants ou complexants des ions métalliques.

e) **Enzymes.** — On a déjà signalé que le sol rhizosphérique est très généralement plus riche en enzymes que le sol non rhizosphérique (p. 83). Ces enzymes sont à la fois d'origine végétale et microbienne. Les enzymes d'origine végétale, qui sont les seules qui nous intéressent ici, proviennent soit de l'exsudation proprement dite, soit des cellules exfoliées des racines ; dans ce dernier cas, il ne s'agit donc plus d'exsudation au sens strict. Bien qu'il soit difficile d'apporter la preuve qu'une enzyme provient de l'exsudation, on admet que les enzymes suivantes sont effectivement exsudées :

- phosphatase, exsudée par le Maïs ;
- invertase (saccharase), amylase, protéase, exsudées par le Blé, le Maïs, le Pois ;
- polygalacturonase, exsudée par la Luzerne et le Trèfle.

On a déjà signalé que l'exsudation de cette dernière enzyme se manifeste seulement en présence de *Rhizobium* infectants (cf. p. 607) : cette réaction très spécifique met bien en évidence le rôle considérable des micro-organismes de la rhizosphère sur le processus d'exsudation.

f) **Exsudation d'eau.** — Lorsque l'atmosphère est saturée (humidité relative de 100 %), les plantes peuvent exsuder par les racines des quantités importantes d'eau (SCHIPPERS et coll., 1967).

g) **Autres substances exsudées.** — A côté des différentes substances que l'on vient d'énumérer, on a décelé dans les exsudats des produits dérivés des acides nucléiques (nucléotides, adénine, guanine), des flavonones, des glucosides, des coumarines, etc.

d) ASPECT QUANTITATIF

Les exsudats ne sont pas libérés uniformément dans l'ensemble du système racinaire mais sont localisés en certains sites préférentiels : zone d'élongation de la racine, zone de production du chevelu radicellaire, ce qui se conçoit bien car ces deux zones sont douées d'une activité métabolique et d'une perméabilité élevées. Les données quantitatives sur l'importance des exsudats racinaires sont relativement rares et, sauf exception

(HARMSSEN et JAGER, 1963), ont été établies à partir de cultures hydroponiques et non de cultures sur sol.

DEMIDENKO, cité par MACURA (1966), estime que le poids des exsudats racinaires représente 27 % de la masse végétale (Blé et Tabac), alors que VANČURA (1961) avance des chiffres nettement moins élevés : 7 à 10 %. Ces dernières évaluations sont sensiblement du même ordre de grandeur ou un peu plus élevées que celles de MESCHKOV, cité par MACURA (1966) : d'après cet auteur, les exsudats, exprimés en carbone, représentent 1,0 à 1,7 % (Maïs) et 2,7 à 4,4 % (Haricot) de la partie aérienne des plantes étudiées ; après renouvellement des solutions nutritives, ces pourcentages s'élèvent respectivement à 2,3 et à 11,0 %, ce qui tend à indiquer que l'exsudation est stimulée lorsqu'il n'y a pas accumulation des produits dans le milieu. Il est donc probable que, dans le sol, la production brute des exsudats est au moins aussi élevée qu'en culture hydroponique, car ils sont biodégradés par la microflore rhizosphérique ou adsorbés par les colloïdes du sol au fur et à mesure de leur diffusion.

e) EFFET STIMULANT OU INHIBITEUR DES EXUDATS SUR LA MICROFLORE

Alors que nos connaissances sur la composition chimique des exsudats racinaires ont progressé rapidement au cours des dix dernières années, l'étude de l'effet de ces exsudats sur les différents secteurs de la microflore pathogène ou saprophyte est seulement ébauchée. Une des difficultés majeures auxquelles on se heurte dans ce type de recherche réside dans le fait que l'action des substances exsudées varie suivant leur concentration dans la rhizosphère (DASTE, 1958) et que l'on ne connaît ni la concentration de ces substances dans la zone de diffusion, ni l'importance, ni la vitesse de leur inactivation par biodégradation ou par adsorption par les colloïdes du sol. Les variations de concentration des substances biologiquement actives dans les exsudats racinaires pourraient peut-être expliquer la succession des phénomènes de stimulation ou de dépression que l'on observe fréquemment pour certains micro-organismes tels que l'*Azotobacter* ou les Bactéries nitréuses (MOLINA et ROVIRA, 1964). Il est toutefois des cas où l'effet stimulant ou inhibiteur est bien établi dans des conditions expérimentales données. Nous en donnerons quelques exemples :

a) **Exsudats stimulant la microflore.** — **Bactéries :** *Beijerinckia indica* est très nettement stimulé par les exsudats rhizosphériques de la Canne à sucre (cf. p. 553) ; *Azotobacter chroococcum* est stimulé par les exsudats de *Canna indica* (RUBENCHIK, 1960).

Champignons : les spores de Champignons isolés à la surface des racines de Blé (*Rhizopus arrhizus*, *Mucor racemosus*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium chermesinum*) germent mieux près des plantes en germination que dans le sol (ČATSKÁ, 1965). Des expériences faites avec des Champignons pathogènes (*Fusarium oxysporum*, f. *pisi* et *Plasmidiophora brassicae*) montrent que les plantes résistant à ces parasites exsudent des substances inhibant la germination des spores, alors que les plantes sensibles stimulent cette germination (BUXTON, 1957 ; BOCHOW, 1965). Mais cette spécificité des

exsudats en relation avec la germination des spores de Champignons pathogènes ne se manifeste pas toujours : SCHROTH et HENDRIX (1962) observent la germination de chlamydospores de *Fusarium solani*, f. *phaseoli*, aussi bien en présence d'exsudats de plantes sensibles qu'en présence d'exsudats de plantes résistantes.

Remarque : Signalons, pour mémoire, que de nombreuses plantes, par l'intermédiaire de leurs exsudats, exercent sur les Nématodes une attraction très nette (LUC, 1963 ; KATZNELSON, 1965 ; MOUNTAIN, 1965).

b) Exsudats inhibant la microflore. — Les racines, dans leur phase de croissance très active, c'est-à-dire au moment de la germination, produiraient des quantités importantes de substances toxiques qui limiteraient la prolifération des micro-organismes hétérotrophes à leur surface (SAMTSEVICH, 1965). La production de substances toxiques diminuerait ensuite, permettant ainsi le développement de la colonisation de la zone rhizosphérique par les micro-organismes telluriques. Cette forte production de substances toxiques dans les racines très jeunes expliquerait, d'après SAMTSEVICH, l'absence de mycorrhizes sur ces racines. De telles substances toxiques ont été isolées et déterminées : citons, en particulier, le glycoside des extrémités des racines d'Avoine qui inhibe certains Champignons (SCHÖNBECK, 1958), ainsi que des substances phénoliques diverses : acide isochlorogénique, acide chlorogénique, gallotannin, acide gallique (RICE, 1967).

Ces exsudats inhibiteurs jouent un double rôle :

1° Protection des plantes contre l'infection par des organismes pathogènes : Champignons, Bactéries, Virus. — On a cité par ailleurs les travaux de BUXTON et ceux de BOCHOW, d'où il ressort que des plantes résistantes à un Champignon pathogène doivent cette propriété à la nature de leurs exsudats qui inhibent la germination des spores du parasite. Cette idée est confirmée par les résultats obtenus par STRZELCZYK (1961) avec le Lin : les variétés résistantes du *Fusarium* sont précisément celles qui exsudent des substances limitant le développement des micropopulations dans la rhizosphère.

L'action protectrice des exsudats de la graine joue un rôle important au moment de la germination : ainsi LANE, cité par RICE (1967) a démontré que les graines d'*Helianthus annuus* pourrissent plus souvent pendant les tests de germination lorsque l'on a, au préalable, lessivé les composés inhibiteurs normalement présents sur les graines.

2° Compétition entre les végétaux. — RICE (1967) a démontré que certaines plantes peu exigeantes en azote minéral (*Ambrosia elatior*, *Euphorbia corollata*, *Helianthus annuus*) produisent des inhibiteurs des micro-organismes nitrificateurs et fixateurs d'azote, ce qui leur donne un avantage considérable vis-à-vis des plantes dont les exigences azotées sont plus importantes. Ce mécanisme de compétition ralentirait la vitesse de succession des espèces végétales.

2° Exfoliation des tissus racinaires

Dans la zone rhizosphérique, aux exsudats s'ajoutent toutes les substances qui proviennent de l'exfoliation des tissus racinaires telles que cellules mortes de l'épiderme et de la zone corticale, poils absorbants, etc.

Il s'agit là de substrats qui favorisent le développement d'une microflore spécialisée, désignée par KRASILNIKOV (1958) sous le nom de microflore des racines en décomposition et comprenant cellulolytiques, pectinolytiques, amylolytiques, protéolytiques.

3° Dégagement de CO₂ ou d'O₂ par les racines

L'atmosphère de la rhizosphère est caractérisée par une forte teneur en CO₂, qui provient à la fois de la plante et de la microflore. Se fondant sur des expériences de mesure de dégagement de CO₂ dans des rhizosphères stériles et non stériles, LUNDEGÅRDH (1927) admet que le CO₂ dégagé provient pour les 2/3 de la plante et pour 1/3 des micro-organismes.

Ces résultats ont été confirmés récemment par WOLDENDORP (1963), qui a montré que le système racinaire du Pois consomme 67 % de l'O₂ mis à sa disposition, le reste (soit 33 %) étant utilisé par les micro-organismes. La part du CO₂ dégagé par la plante (ou ce qui revient sensiblement au même la part de l'O₂ consommé) peut, semble-t-il, dans certaines conditions, s'abaisser et représenter seulement le 1/3 de la production totale dans la rhizosphère.

Lors de l'étude du bilan des gaz dans la rhizosphère, il est nécessaire de tenir compte du fait que certaines plantes exsorbent de l'oxygène par leurs racines et enrichissent ainsi en oxygène l'atmosphère de la rhizosphère. Le cas du Riz (*Oriza sativa*) commence à être bien connu (AIMI, 1960 ; JEFFERY, 1961 ; KALPAGE, 1965 ; MACRAE et CASTRO, 1967) ; mais cette propriété a été également signalée chez d'autres plantes : Saule (*Salix atrocinerea*) (LEYTON et ROUSSEAU, 1958), Molinie (*Molinia coerulea*) (WEBSTER, 1962), *Menyanthes trifoliata* (ARMSTRONG, 1967) ; le cas le plus frappant est celui d'*Avicennia nitida*, arbre caractéristique de certaines mangroves⁽¹⁾, qui, à marée basse, aspire littéralement l'air par ses pneumatophores ou racines aériennes, reliées au système racinaire principal (SCHOLANDER et coll., 1955). On trouvera d'autres références sur cette question dans une revue récente de GRABLE (1966).

D'un autre côté, il est probable que les racines absorbent activement le CO₂, cette absorption étant d'autant plus importante que la teneur en CO₂ de l'atmosphère du sol est élevée. Mais, bien souvent, la diffusion de l'oxygène ou l'absorption du CO₂ par les racines ne sont pas suffisamment intenses pour masquer l'enrichissement en CO₂ de la rhizosphère dû à la respiration végétale et microbienne : la rhizosphère est donc, en général, mais pas toujours, caractérisée par un déficit en O₂, qui favorise la dénitrification et les autres processus anaérobies dans cette zone.

(1) Voir la définition de la mangrove, page 248.

C. — INFLUENCE DES MICRO-ORGANISMES SUR LA PLANTE

On a vu que, par leurs exsudats racinaires, les plantes contrôlent le développement de la microflore rhizosphérique ; inversement, la microflore rhizosphérique agit sur la plante soit *directement* par ses produits de catabolisme, de synthèse ou de lyse qui exercent sur la plante un effet bénéfique ou toxique, soit *indirectement* en modifiant le milieu chimique (biodégradation des substances biologiquement actives, solubilisation, minéralisation ou immobilisation des éléments nutritifs) ou physique (agrégation).

Certains auteurs insistent sur l'effet bénéfique des produits du métabolisme des micro-organismes rhizosphériques sur le développement des plantes et font remarquer que le fait que les végétaux puissent croître et se développer dans une solution minérale en l'absence de micro-organismes ne prouve pas l'inutilité de ces derniers (RIVIÈRE, 1964). Ainsi, KRASILNIKOV (1958) a montré que la teneur en acides aminés des tissus végétaux d'une plante cultivée en solution ammoniacale s'élève si la rhizosphère renferme des Bactéries ; les acides aminés sont, dans ces conditions, en partie synthétisés par les micro-organismes, puis absorbés par les plantes. De même, des végétaux cultivés sur une solution où le phosphore se trouve exclusivement sous forme minérale (marqué ^{32}P) absorbent non seulement le phosphore minéral mais aussi des composés phosphorés organiques d'origine microbienne. A côté de cet effet bénéfique, les micro-organismes peuvent exercer un effet défavorable, soit en tant que pathogènes, soit en tant que saprophytes concurrençant les plantes (en jouant le rôle de mauvaises herbes microbiologiques) ou en les intoxiquant par les produits de leur métabolisme.

C'est un effet de concurrence qui pourrait expliquer que l'absorption du phosphore par l'Orge est beaucoup moins active en milieu non stérile qu'en milieu stérile, cette concurrence se manifestant seulement pour de très faibles concentrations en phosphore du milieu liquide de culture (BARBER et LOUGHMAN, 1967). Mais les micro-organismes n'agissent pas seulement sur le processus global d'absorption ; ils modifient aussi les processus de transfert du phosphore dans la plante elle-même : dans l'expérience à laquelle nous venons de faire allusion, les micro-organismes ralentissent le transfert du phosphore des racines vers la tige ; mais il est des conditions expérimentales qui, au contraire, induisent une accélération de ce transfert.

I. — INFLUENCE DIRECTE DES MICRO-ORGANISMES SUR LA PLANTE : NATURE ET RÔLE DES MÉTABOLITES MICROBIENS

Il est établi, actuellement, que les plantes peuvent absorber par leurs racines de nombreuses substances organiques : phytohormones, acides aminés, vitamines, antibiotiques, dérivés phénoliques, enzymes et protéines ainsi que de nombreux autres produits de composition connue (pesticides, par exemple) ou mal définie (substances humiques). Ces substances proviennent soit de l'activité métabolique des micro-organismes telluriques, soit de la végétation (exsudats racinaires, composés hydrosolubles des litières, par exemple) ; elles peuvent aussi être apportées au sol par l'Homme : c'est le cas des pesticides (cf. p. 498) ou des résidus industriels. Elles sont absorbées en faible quantité par les végétaux ; elles n'en jouent pas moins un rôle important en inhibant ou en stimulant leur développement non seulement dans les premiers stades de la croissance, mais aussi au cours de la floraison et de la fructification.

Nous traiterons ci-dessous des principaux composés organiques synthétisés par les micro-organismes de la rhizosphère. Quant au rôle des composés minéraux d'origine microbienne, nous l'évoquerons plus loin et seulement dans le cas de l'intoxication des plantes par l'hydrogène sulfuré provenant d'une sulfato-réduction excessive dans la rhizosphère (p. 578).

1° Principaux types de métabolites

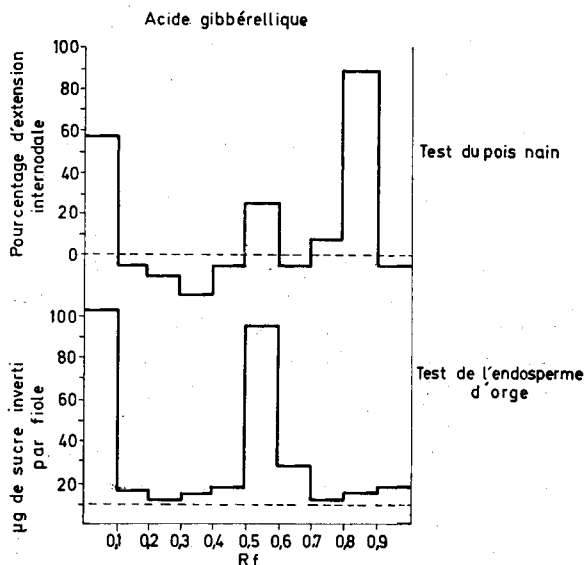
a) PHYTOHORMONES SYNTHÉTISÉES PAR LES MICRO-ORGANISMES

Par phytohormones d'origine microbienne, nous entendons tous les produits de métabolisme des micro-organismes de la rhizosphère susceptibles d'assurer, en concentration extrêmement faible, la régulation des processus de croissance par élongation et des divers processus de développement de la plante : division cellulaire, différenciation, reproduction, etc. Les phytohormones d'origine microbienne actuellement connues appartiennent aux trois groupes suivants : auxines, gibbérellines, kinines.

Pour rechercher ces régulateurs de croissance dans les produits de métabolisme microbien, on fait appel à la fois à des méthodes chimiques (chromatographie en particulier) et à des tests biologiques classiques (fig. 152).

Auxines. — Parmi les plus connues et les plus étudiées figure l'acide indol-acétique (AIA), corps constitué d'un noyau indol où est fixée en position 3 une chaîne latérale d'acide acétique. L'AIA est synthétisé par de nombreuses Bactéries (*Azotobacter chroococcum*, *A. vinelandii*, *Beijerinckia indica*, *B. fluminensis*, *Bacillus megaterium*, *B.*

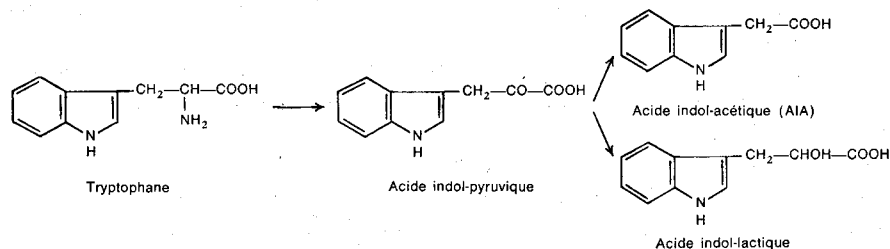
FIG. 152. — Exemple d'application de tests biologiques à l'étude de l'activité phytohormonale des différentes fractions éluées d'un chromatogramme de filtrat de culture microbienne. Il s'agit ici d'une culture d'*Azotobacter* sp. âgée de 14 jours. Les composés ayant un Rf de 0,5 à 0,6 correspondent à l'acide gibbéréllique ; leur teneur est d'au moins 10^{-3} μg par ml ; ils accroissent l'allongement internodal du Pois nain de 25 %. Les composés ayant un Rf de 0,8 à 0,9 sont actifs sur le Pois nain, mais inactifs sur l'endosperme d'Orge. Les composés ayant un Rf de 0 à 0,1 donnent des réactions positives avec les deux tests (BROWN et coll., 1968).



circulants, des *Arthrobacter*, des *Xanthomonas*, *Pseudomonas fluorescens*, *Rhizobium* sp.) et par certains Champignons, dont des espèces du genre *Taphrina*.

Il existe d'autres substances indoliques synthétisées par les micro-organismes qui sont douées d'une activité auxinique indiscutable : acide indol-pyruvique, indol-carboxylique, indol-acétyl-aspartique (cf., par exemple, CHALVIGNAC et FALCOU, 1966).

Le tryptophane constitue un substrat de choix pour les micro-organismes synthétisant l'AIA et l'on pense qu'au niveau de la rhizosphère, la synthèse de l'AIA, ainsi que celle d'autres substances auxiniques, serait tributaire de la fourniture de tryptophane par les exsudats racinaires (cf. p. 560). Le tryptophane donnerait naissance à l'acide indol-pyruvique par une transamination ou une désamination oxydative ; l'acide indol-pyruvique pourrait, à son tour, donner soit de l'acide indol-lactique par hydrogénation, soit de l'acide indol-acétique (AIA) par décarboxylation oxydative (BRAKEL et HILGER, 1965) :



A côté de ces substances auxiniques connues, il existe de nombreuses autres substances encore non isolées dont l'effet se superpose à celui des composés indoliques que nous venons d'énumérer.

Gibbérellines. — Ces substances sont synthétisées par des Champignons, Actinomycètes et Bactéries. On sait que les gibbérellines ont été isolées à l'origine à partir de cultures de *Fusarium moniliforme* (*Gibberella fujikuroi*) ; on en a trouvé également dans des cultures d'Actinomycètes et de diverses Bactéries dont *Azotobacter chroococcum* (VANČURA, 1961) ; en ce qui concerne ce dernier micro-organisme, la production de gibbérellines n'a pas été retrouvée par HENNEQUIN et BLACHÈRE (1966) avec les souches étudiées. La présence de substances apparentées aux gibbérellines a été décelée chez *Arthrobacter globiformis* et diverses Bactéries isolées de la rhizosphère ou du sol (KATZNELSON, 1965).

Kinines. — Ces substances, qui possèdent la propriété d'exciter la croissance de certains tissus végétaux cultivés *in vitro*, pourraient également être synthétisées par les micro-organismes ; ainsi FALLOT (1964) a mis en évidence, dans une culture de *Bacillus megaterium*, une fraction présentant des analogies avec les kinines.

b) ACIDES AMINÉS

Les micro-organismes et les enzymes du sol jouent un rôle de premier plan dans l'approvisionnement du sol en acides aminés ; ils interviennent soit en hydrolysant les protéines pour donner des acides aminés (qui sont ensuite transformés en ammoniac), soit en synthétisant des acides aminés à partir de l'azote minéral du sol et en les excréant dans le sol. La libération des acides aminés par la protéolyse a déjà été évoquée antérieurement (p. 189) ; nous n'y reviendrons pas. En ce qui concerne la biosynthèse des acides aminés suivie d'une excrétion dans le milieu, nous indiquerons qu'elle a été démontrée pour de très nombreux micro-organismes : chez les Bactéries, l'aptitude à synthétiser et à excréter les acides aminés est très répandue : BALICKA (1965) l'a trouvée pour toutes les souches étudiées, en culture sur milieu minéral : *Bacillus mesentericus*, *B. oligonitrophilus*, *B. subtilis*, *Chromobacterium violaceum*. Elle a été démontrée en particulier chez des micro-organismes fixateurs d'azote : *Azotobacter* et *Rhizobium*. Elle existe aussi chez les Champignons, les Actinomycètes, les Levures et les Algues.

Bien entendu, les conditions de culture et l'âge influent considérablement sur l'excrétion d'acides aminés ; ainsi, pour *Azotobacter agile*, l'azote ammoniacal est plus favorable que les autres sources d'azote.

Les acides aminés peuvent être bien utilisés par les plantes ou au contraire l'être mal ou bien s'avérer nettement toxiques. Ainsi, *Trifolium pratense* utilise bien les acides aminés suivants : alanine, acide aspartique, arginine ; mais d'autres acides aminés présentent une valeur nutritive médiocre : lysine, glycocolle, acide glutamique. La phytotoxicité de certains acides aminés est bien établie. On citera, par exemple, l'effet

toxique du tryptophane, de la proline et de la valine à des doses de 200 ppm vis-à-vis de plantules de Tabac (STEINBERG, 1947).

c) VITAMINES ET COFACTEURS

Lorsqu'elle est exprimée en valeur absolue, l'excrétion des vitamines par les Bactéries est inférieure à celle des acides aminés. Mais cette production de vitamines excède souvent de beaucoup les besoins des micro-organismes comme on l'a montré en particulier chez *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens* et *Bacillus subtilis* : l'excrétion de flavines représente chez ces espèces 80 à 800 % des flavines retenues dans les cellules (WILSON et PARDEE, 1962). On peut expliquer la production relativement très élevée de vitamines chez les Bactéries par le fait que la synthèse de ces composés est contrôlée beaucoup moins étroitement que celle des acides aminés en particulier ; il ne semble pas qu'il existe une inhibition par feed-back de cette synthèse (VELDKAMP, 1968).

Dans la rhizosphère, la densité des Bactéries synthétisant des vitamines est élevée ; ces vitamines appartiennent essentiellement au groupe B : thiamine, riboflavine, pyridoxine, acide nicotinique, biotine.

Divers auteurs soviétiques admettent que les plantes seraient capables d'absorber les vitamines produites dans la rhizosphère ; cette absorption pourrait favoriser le développement des racines et même l'assimilation de l'azote. Mais il semble que cet effet stimulant des vitamines se manifeste seulement lorsque l'activité synthétique propre de la plante est limitée pour une raison ou une autre (MACURA, 1966).

d) ANTIBIOTIQUES

La rhizosphère est un foyer de production d'antibiotiques en raison de la présence de substrats énergétiques qui favorisent la prolifération de micro-organismes synthétisant ces substances. Les antibiotiques peuvent exercer sur la plante un effet direct lorsqu'ils sont absorbés par les racines ; ils peuvent aussi intervenir indirectement en modifiant l'équilibre entre les micro-organismes rhizosphériques. Nous évoquerons ici le premier aspect du problème, et reportons à la page 702 l'étude de l'influence indirecte des antibiotiques.

Les antibiotiques peuvent jouer un double rôle : 1° protéger le végétal contre l'invasion de micro-organismes pathogènes ; 2° modifier la physiologie de la plante. La protection du végétal contre les micro-organismes phytopathogènes est possible, à condition que l'antibiotique considéré présente les qualités suivantes (KRASILNIKOV, 1958) :

- être actif vis-à-vis de l'agent pathogène à l'intérieur des tissus ;
- pénétrer facilement dans les tissus ;
- ne pas être inactivé rapidement ;
- ne pas être toxique pour la plante.

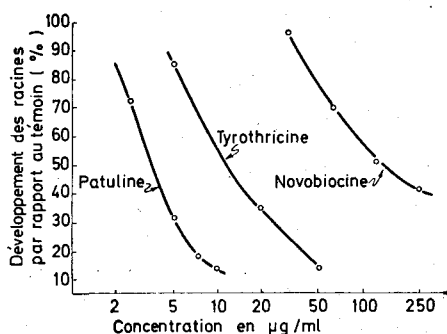


FIG. 153. -- Inhibition de l'élongation racinaire du Concombre par trois antibiotiques (NORMAN, 1960).

Tel est le cas de la *griséofulvine* synthétisée par *Penicillium nigricans* et *P. griseofulvum*. Cet antibiotique est bien absorbé par la Tomate et la Laitue et les protège efficacement contre les attaques fongiques (BRIAN et coll., 1951).

Les antibiotiques peuvent aussi modifier le métabolisme de la plante et notamment inhiber ou stimuler certaines phases de la croissance. La stimulation de la germination et de la croissance par les antibiotiques est loin d'être établie. Par contre, l'inhibition de la croissance des plantes a été démontrée avec certitude pour de nombreux antibiotiques (fig. 153).

e) SUBSTANCES PHÉNOLIQUES

La synthèse de substances phénoliques par les micro-organismes telluriques a été signalée par de nombreux auteurs. Nous citerons, en ce qui concerne les Bactéries, les travaux de HENNEQUIN et BLACHÈRE (1966) sur *Azotobacter chroococcum*. Quant aux Champignons, on indiquera, à titre d'exemple, les résultats des recherches de SIMONART et ses collaborateurs (1959) sur *Penicillium griseofulvum* : ce micro-organisme est capable de produire sur milieu Czapek-Dox les acides dihydroxybenzoïques suivants : *o*-, *m*- et *p*-hydroxybenzoïque, α - et β -résorcylique et protocatéchique.

On a émis l'hypothèse que ces composés phénoliques d'origine microbienne pourraient intervenir *in situ* indirectement sur la croissance des végétaux en protégeant l'AIA ou au contraire en accélérant sa destruction ; mais cette théorie n'a jusqu'à présent reçu aucune confirmation expérimentale.

f) SUBSTANCES HUMIQUES

D'après divers auteurs (CHAMINADE, 1956 ; KRASILNIKOV, 1958 ; PAULI, 1967), les substances humiques exerceraient un effet favorable sur la croissance des plantes et sur leur résistance au flétrissement.

2° Rôle effectif des métabolites microbiens dans la rhizosphère

On pourrait penser, *a priori*, que le rôle des métabolites synthétisés par les micro-organismes dans la rhizosphère est négligeable parce que, dans le sol, ces composés se trouvent souvent à une très faible concentration ou parce qu'ils sont inactivés par adsorption sur les colloïdes. Mais l'expérience montre que les plantes sont sensibles à l'action des métabolites microbiens (POCHON, 1963). Cet effet peut s'expliquer :

a) par la concentration relativement élevée de ces produits dans certains microsites privilégiés de la rhizosphère ;

b) par le fait que les plantes sont capables de désorber certaines substances adsorbées sur les colloïdes, telles que les gibbérellines ou les antibiotiques.

Il ne faut pas cependant se dissimuler que l'étude du rôle effectif des métabolites microbiens dans le sol est très délicate en raison :

1° de leur biodégradation et de leur adsorption sur les colloïdes du sol ;

2° d'interactions complexes entre les phénomènes de stimulation et d'inhibition d'origine microbienne (WELTÉ et TROLLENIER, 1965) ;

3° d'un effet concentration très marqué (l'influence des métabolites microbiens sur la croissance végétale peut être favorable, nulle ou défavorable, suivant que leur concentration est plus ou moins élevée).

II. — INFLUENCE INDIRECTE DES MICRO-ORGANISMES SUR LA PLANTE

1° Biodégradation de substances biologiquement actives vis-à-vis des plantes

Les substances stimulantes ou toxiques qui apparaissent dans la rhizosphère à la suite de processus d'exsudation par la plante ou de synthèse microbienne sont dégradées plus ou moins rapidement par la microflore rhizosphérique. La biodégradation est favorable à la plante si elle porte sur des produits toxiques et, au contraire, défavorable si elle intéresse des substances stimulantes.

On commence actuellement à s'intéresser au rôle *détoxifiant* des micro-organismes rhizosphériques, qui paraît avoir une importance beaucoup plus grande qu'on ne l'imaginait ; certains auteurs (ROVIRA et BOWEN, 1966) estiment même que l'effet bénéfique obtenu par l'inoculation (cf. p. 586) serait dû plus à une détoxification qu'à une stimulation. Un bon exemple de détoxification concerne la coumarine, substance d'origine végétale, qui est un inhibiteur naturel de la croissance végétale particulièrement puissant et très répandu. Si la coumarine n'était pas biodégradée, elle rendrait rapidement le sol impropre à la culture. D'après une étude récente de RIVIÈRE et CHAUSSAT (1966), les micro-organismes les plus actifs vis-à-vis de la coumarine seraient les *Pseudomonas*, qui, on le sait, sont des Bactéries bien adaptées à la vie rhizosphérique. La rhizosphère de la Flouve (*Anthoxanthum odoratum*), plante contenant de grandes quantités de coumarine, renferme un pourcentage élevé de souches capables de détruire cette substance ; c'est pourquoi on ne trouve presque jamais de coumarine chimiquement décelable dans les sols où la Flouve a poussé.

La teneur en acides aminés du sol ne semble pas devoir atteindre des concentrations toxiques pour les plantes car ils sont facilement décomposés par la microflore tellurique : ainsi, pendant une incubation de six semaines à 28 °C, la concentration de quatorze acides aminés, dont la lysine, l'acide aspartique, la glutamine, la glycine, le tryptophane, la tyrosine, qui sont les plus répandus, tombe de 10-50 à 3-32 µg/100 g de sol (ROBERT, 1964).

Notons enfin que les phytotoxines qui apparaissent pendant la stérilisation par la chaleur sont biodégradées par de nombreux Champignons et Bactéries de la rhizosphère (ROVIRA et BOWEN, 1966).

D'un autre côté, les substances régulatrices de la croissance végétale (phytohormones) ou diverses substances stimulantes sont activement dégradées. Tel est le cas de l'AIA ou des gibbérellines (RIVIÈRE, 1964).

2° Solubilisation, minéralisation ou immobilisation, gains ou pertes d'éléments nutritifs

a) AZOTE

Ammonification. — Les micro-organismes ammonifiants sont, en général, beaucoup plus abondants dans la rhizosphère que dans le sol hors rhizosphère : l'on peut donc s'attendre à une ammonification rapide de l'azote organique à proximité des racines. Effectivement, il découle d'expériences conduites par BARTHOLOMEW et CLARK (1950) avec ^{15}N , que l'ammonification brute est plus active dans la rhizosphère qu'en dehors. Mais les processus d'immobilisation brute de l'azote sont parfois assez intenses pour que l'ammonification nette soit faible. Des cas typiques d'immobilisation nette d'azote dans la rhizosphère ont été signalés par GORING et CLARK (1949), LEGG et ALLISON (1960). Ils s'expliqueraient par le fait que le rapport C/N des exsudats racinaires peut être assez élevé : d'après HARMSSEN et JAGER (1963), il pourrait parfois atteindre 16.

Nitrification et dénitrification. — On admet que la nitrification est peu intense dans la rhizosphère car les rapports *R/S* concernant les micro-organismes nitrificateurs sont souvent inférieurs à 1 ou non significativement différents de 1. Cette faible activité nitrifiante dans la rhizosphère est attribuée :

1° à une inhibition par des substances toxiques (THERON, 1951 ; SOULIDES et CLARK, 1958 ; MUNRO, 1966) ;

2° à la faible teneur de la rhizosphère en ions NH_4^+ (MACURA, 1966) résultant à la fois de l'absorption de cet ion par la plante et de l'immobilisation par les micro-organismes (MOLINA et ROVIRA, 1964).

D'un autre côté la dénitrification est très active en raison de la forte densité des micro-organismes dénitrifiants dans la rhizosphère (tableau LXXVIII) et des conditions

écologiques favorables à l'activité de ces micro-organismes à proximité des racines : présence de donneurs d'hydrogène et très faible teneur en oxygène de l'atmosphère ou des solutions du sol. Effectivement, des pertes d'azote sensibles ont été mises en évidence dans des sols très riches en racines, tels que les sols de prairies permanentes, qui présentent tous les caractères de la rhizosphère.

Fixation d'azote. — Il est très difficile de préciser l'importance effective de la fixation biologique de l'azote moléculaire dans la rhizosphère. En ce qui concerne l'*Azotobacter*, on pense actuellement que son action favorable sur la plante, lorsqu'elle se manifeste, ne doit pas être attribuée à un enrichissement éventuel de la rhizosphère en azote combiné, mais à la fourniture à la plante de substances régularisant la croissance, ou à la protection contre les micro-organismes pathogènes (JACKSON et coll., 1964 ; MISHUSTIN, 1966). On ignore le rôle éventuel, en tant que pourvoyeurs d'azote, des autres micro-organismes fixateurs d'azote dans la rhizosphère, tels que les *Beijerinckia*, qui sont très abondants autour des racines de Canne à sucre (cf. p. 553).

b) PHOSPHORE

On a déjà indiqué, à propos de l'étude des transformations microbiennes du phosphore (cf. p. 264), que les rhizosphères hébergent une microflore particulièrement active en ce qui concerne la minéralisation du phosphore organique et la solubilisation des phosphates insolubles.

Minéralisation et immobilisation. — Le phosphore organique qui, dans la rhizosphère, est constitué essentiellement par la phytine et les acides nucléiques, doit être minéralisé avant d'être absorbé par les plantes et l'on conçoit fort bien le rôle important que peuvent jouer les micro-organismes minéralisant cette forme de phosphore. Ces micro-organismes sont parfois très abondants puisqu'ils peuvent représenter jusqu'à 70 % des micropopulations totales. Ils appartiennent à des espèces bactériennes très variées des genres : *Bacillus* (exemple : *Bacillus megaterium* var. *phosphaticum*), *Serratia*, *Pseudomonas*, *Corynebacterium*.

La minéralisation brute du phosphore organique peut être masquée par une immobilisation brute plus importante, de sorte qu'on a pu mettre en évidence, dans certains cas, une immobilisation nette de phosphore non négligeable (THOMPSON et coll., 1949).

Solubilisation des phosphates. — Depuis que GERRETSEN (1948) a démontré que les plantes cultivées non stérilement utilisent beaucoup mieux les formes de phosphore non solubles que les plantes cultivées aseptiquement, de nombreux chercheurs ont étudié la densité, dans les rhizosphères, des Bactéries solubilisant les composés minéraux du phosphore. Les résultats publiés sont difficiles à comparer en raison des différences qui séparent les conditions expérimentales : sols, plantes, techniques de mise en évidence des micro-organismes (ROVIRA, 1965). On peut cependant en déduire que, bien souvent, la densité absolue des micro-organismes solubilisant les phosphates est plus élevée dans

la rhizosphère que dans le sol hors rhizosphère (SPERBER, 1958a ; MACURA, 1966) et que parfois, mais plus rarement, la *densité relative* de ces micro-organismes est plus élevée dans la rhizosphère : on a décelé dans certaines micro-populations rhizosphériques jusqu'à 65 % de Bactéries capables de solubiliser le phosphate de calcium.

On ne reviendra pas sur les mécanismes de la solubilisation microbiologique qui ont été exposés antérieurement (p. 262).

c) AUTRES ÉLÉMENTS NUTRITIFS

La microflore rhizosphérique n'intervient pas seulement dans les transformations de l'azote, du phosphore, du carbone, mais aussi dans les transformations d'autres éléments tels que le fer, le manganèse, le calcium.

Solubilisation de formes minérales inassimilables. — La microflore rhizosphérique *accroît la solubilité* du fer et du manganèse par abaissement du potentiel d'oxydo-réduction et par complexation par ses produits de métabolisme (acides organiques, acides aminés, composés phénoliques). La durée de vie de ces complexes, relativement fragiles, serait prolongée dans la rhizosphère par l'acidité relativement importante de ce microhabitat, de sorte que les plantes auraient le temps de les absorber avant qu'ils ne soient détruits. La production de gaz carbonique et d'acides par la microflore active la dissolution des carbonates par les racines, mais on ignore si cet effet se traduit par une absorption accrue de calcium par les plantes (NICHOLAS, 1965).

Minéralisation de formes organiques. — On a démontré que la microflore rhizosphérique peut minéraliser certains composés organiques autres que les composés phosphorés et azotés : c'est, par exemple, le cas du soufre, qui n'est minéralisé activement qu'en présence de racines (*Phalaris tuberosa*) (FRENEY et SPENCER, 1960).

Insolubilisation. — La microflore rhizosphérique peut, au contraire, insolubiliser certains éléments ; tel est le cas de l'insolubilisation du manganèse par oxydation biologique, qui se traduit par une carence très nette chez la plante (cf. p. 287).

3° Modification du milieu physique

L'amélioration de la structure du sol sous certaines formations végétales — notamment les prairies à base de Graminées — pourrait être due, *pro parte* tout au moins, aux substances agrégatives synthétisées par les micro-organismes rhizosphériques. On a, en effet, démontré que les micro-organismes capsulés ou synthétisant des substances gommeuses sont plus abondants — en valeur absolue et parfois aussi en valeur relative — dans la rhizosphère de certaines plantes (Graminées) que dans le sol hors rhizosphère (tableau LII).

D. — INTERACTIONS ENTRE MICRO-ORGANISMES RHIZOSPHERIQUES

Au sein de la rhizosphère, les phénomènes de synergie — on dit aussi de satellitisme — et d'antagonisme sont particulièrement intenses. Comme ces interactions jouent un rôle majeur dans l'équilibre entre les micro-organismes saprophytes et les micro-organismes pathogènes, leur étude est susceptible d'applications importantes dans le contrôle biologique des infections végétales bactériennes et fongiques. Ce problème sera abordé en détail dans la dernière partie de ce livre ; nous nous bornerons ici à donner quelques exemples typiques d'interactions se développant dans le cadre même de la rhizosphère.

I. — ASSOCIATIONS SYNERGIQUES DANS LA RHIZOSPHERE

De nombreuses publications ont mis en évidence la stimulation préférentielle dans la rhizosphère de certaines associations, notamment d'associations entre micro-organismes synthétisant et exigeant des vitamines et divers facteurs de croissance. Ces associations présentent, pour la plante, un intérêt certain si les micro-organismes associés sont susceptibles de favoriser directement ou indirectement sa croissance. Les associations synergiques peuvent aussi unir des micro-organismes phytopathogènes et accroître leur virulence vis-à-vis de l'hôte ; ainsi la sensibilité à la pourriture des racines (*Thielaviopsis basicola*) de certaines variétés de Tabac est due au fait qu'elles hébergent dans leur rhizosphère plus de Bactéries stimulant ces Champignons pathogènes que de Bactéries les inhibant. La situation est inversée chez les espèces résistant au *Thielaviopsis* (STRZELCZYK, 1966). On trouvera, plus loin, d'autres exemples d'associations pathogènes (p. 686).

II. — ANTAGONISMES DANS LA RHIZOSPHERE

Les antagonismes entre micro-organismes ne présentent pas les mêmes caractères et la même intensité dans la rhizosphère et dans le sol hors rhizosphère. L'exemple suivant, dû à CHAN et KATZNELSON (1961), met bien en évidence ce fait. Il concerne un modèle simple constitué de deux micro-organismes : *Pseudomonas* sp., micro-organisme typique

de la rhizosphère et *Arthrobacter globiformis*, micro-organisme typique du sol non rhizosphérique. Lorsqu'ils sont cultivés ensemble sur milieu à l'extrait de racine, ces deux micro-organismes présentent un antagonisme beaucoup plus accentué que lorsqu'ils sont cultivés ensemble sur milieu à l'extrait de sol. L'inhibition d'*Arthrobacter globiformis* serait due à l'acidification du milieu à l'extrait de racine par le *Pseudomonas* sp. et peut-être aussi à la production d'antibiotiques favorisée par ce milieu. A l'aide d'un modèle plus complexe composé de cinq espèces bactériennes (*Agrobacterium radiobacter*, *Arthrobacter citreus*, *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas* sp.) inoculées simultanément dans un milieu à l'extrait de racine, les mêmes chercheurs ont mis en évidence une inhibition nette du *Bacillus*, une inhibition moins marquée d'*Azotobacter chroococcum*, avec, au contraire, une prédominance du *Pseudomonas* rappelant celle qui se manifeste effectivement dans les rhizosphères *in situ* (CHAN et coll., 1963).

Bien que l'antibiotisme soit une forme d'antagonisme particulièrement spectaculaire *in vitro*, on ne devra pas oublier le rôle important, dans la rhizosphère, des autres types d'antagonisme et notamment celui de la compétition pour les aliments ou l'espace et celui du parasitisme (cf. *infra*, p. 689). C'est à l'intervention de ces derniers types d'antagonisme que l'on doit souvent attribuer l'effet protecteur de la rhizosphère contre les micro-organismes phytopathogènes.

a) **Compétition.** — Dans la rhizosphère, les sources nutritionnelles et énergétiques sont limitées de sorte qu'il apparaît une compétition très vive entre les micro-organismes. L'aptitude à la compétition diffère suivant qu'il s'agit de micro-organismes du rhizoplan ou de micro-organismes de la rhizosphère éloignée : ainsi les bâtonnets gram-négatifs colonisant la surface des racines font preuve d'un pouvoir compétitif plus marqué vis-à-vis de micro-organismes sporulés ou des cocci gram-négatifs que les bâtonnets gram-négatifs habitant la rhizosphère éloignée (VÁGNEROVÁ, 1965). La fréquence des *Fusarium* dans les rhizosphères serait due au pouvoir compétitif élevé de ce Champignon. D'après CHALVIGNAC (1966), l'effet sélectif des exsudats racinaires sur la microflore serait le résultat de la compétition qui oppose les souches à croissance lente et les souches à croissance rapide, ces dernières étant particulièrement favorisées dans la rhizosphère.

Le mécanisme de compétition joue un rôle important dans la protection des plantes contre les pathogènes. Ainsi, on a montré que des Bactéries de la rhizosphère et du sol peuvent limiter la croissance d'un Champignon pathogène de la racine de Luzerne, en utilisant à leur profit la thiamine et les aliments minéraux qui font alors défaut au Champignon (KATZNELSON, 1965).

b) **Antibiose.** — La densité absolue des micro-organismes synthétisant des antibiotiques est souvent plus élevée dans la rhizosphère que dans le sol hors rhizosphère ; mais leur densité relative peut être plus faible.

Ces micro-organismes sont essentiellement des Actinomycètes dont l'antagonisme s'exerce vis-à-vis de Bactéries (par exemple des *Azotobacter* ou des *Rhizobium*) ou vis-à-vis de Champignons.

L'on sait facilement mettre en évidence dans la rhizosphère des micro-organismes producteurs d'antibiotiques ; on est, par contre, très mal renseigné sur leur rôle effectif. On se reportera à ce sujet à la discussion générale sur le rôle des antibiotiques dans le sol (p. 705). On a parfois démontré sans équivoque que l'antagonisme est bien dû à la production d'antibiotiques : tel est le cas, évoqué ultérieurement (p. 623), de l'inhibition de la nodulation par des micro-organismes antagonistes du *Rhizobium*. Mais ce mécanisme semble exceptionnel et il faut éviter de le surestimer. Une étude récente de STRZELCZYK (1966) montre, en effet, que la résistance de certaines variétés de Lin à *Fusarium oxysporum*, f. *lini* (agent de la flétrissure) et de certaines variétés de Tabac à *Thielaviopsis basicola* (agent de la pourriture des racines) est due à la présence dans leur rhizosphère d'une proportion élevée de Bactéries à pouvoir compétitif élevé vis-à-vis de ces Champignons et non à la présence de Bactéries synthétisant des antibiotiques.

III. -- CAS PARTICULIER DE LA MICROFLORE RHIZOSPHERIQUE ASSOCIÉE AUX MYCORRHIZES

TABLEAU LXXIX. — DENSITÉ ABSOLUE ET RELATIVE DES STREPTOMYCÈTES ET DENSITÉ ABSOLUE DES BACTÉRIES ET DES CHAMPIGNONS DANS DES RHIZOSPHERES DE « PSEUDOTSUGA MENZIESII » DOTÉES DE SYSTÈMES MYCORRHIZIENS DIFFÉRENTS (NEAL et coll., 1964)

TYPE DE RHIZOSPHERE ET DE MYCORRHIZE	STREPTOMYCÈTES		BACTÉRIES ET ACTINO- MYCÈTES (Densité absolue en millions)	CHAMPIGNONS (Densité absolue en milliers)
	Densité absolue en millions	Densité relative %		
Mycorrhizes jaunes	10,0	3,1	325,0	64,0
Mycorrhizes blanches	1,2	1,5	83,8	162,0
Mycorrhizes grises	5,3	2,6	206,0	200,0
Racines subérisées	24,2	13,2	183,0	183,0
Sol non rhizosphérique	1,3	20,4	6,3	238,8
Plus petite différence significative ($P = 0,05$)	1,9		10,8	10,7

Les racines pourvues de mycorrhizes possèdent, bien entendu, une microflore rhizosphérique, comme les racines non mycorrhizées ; les formations mycorrhiziennes exercent, sur certains groupes de micro-organismes, une action stimulante ou, au contraire, inhibitrice.

Le tableau LXXIX relatif à des rhizosphères de Sapin de Douglas (*Pseudotsuga menziesii*) met bien en évidence le fait que la composition et la densité des populations rhizosphériques varient très fortement en fonction des types mycorrhiziens : ainsi, les mycorrhizes blanches diminuent la densité absolue des Streptomycètes, alors que les autres types de mycorrhizes stimulent, au contraire, ces micro-organismes.

E. — FACTEURS EXTÉRIEURS INFLUANT SUR L'EFFET RHIZOSPHERIQUE

Les facteurs écologiques agissent sur la microflore rhizosphérique, *directement* et/ou *indirectement*, c'est-à-dire par l'intermédiaire de la plante, notamment en modifiant la qualité et la quantité des exsudats racinaires. Nous examinerons d'abord les facteurs physiques (humidité, température, lumière), puis les facteurs chimiques (fertilisation, applications foliaires) et, enfin, divers facteurs édaphiques.

I. — HUMIDITÉ DU SOL

Alors que l'étude de l'influence de l'humidité sur la microflore a porté sur une très large gamme de tensions allant de 0 à 400 bars, nous nous limiterons ici au cas des très fortes humidités.

L'élévation de l'humidité du sol au-dessus d'un certain seuil peut modifier considérablement l'équilibre microbiologique de la rhizosphère. Ces modifications ont des conséquences heureuses ou malheureuses pour la plante. Leur effet est bénéfique si, par exemple, elles se traduisent par l'inhibition d'un micro-organisme pathogène. Mais les conséquences de la saturation du sol sont désastreuses si, au contraire, il y a stimulation du développement d'un micro-organisme pathogène (PETERSON et coll., 1964). Un autre exemple remarquable de l'influence défavorable de l'humidité excessive sur les processus microbiologiques dans la rhizosphère nous est fourni par l'observation du dépérissement brutal de diverses cultures (Luzerne, Coton, Fève) dans certains sols salés très riches en sulfates. Ce dépérissement se manifeste lorsque les deux conditions suivantes sont réunies : 1° le sol est engorgé sous l'effet des pluies ou de l'irrigation ; 2° une période d'insolation intense succède à une période de forte nébulosité. Il y a alors intoxication des plantes par une accumulation d'H₂S strictement loca-

lisée à la rhizosphère. L'hydrogène sulfuré provient de l'activité des Bactéries sulfato-réductrices, qui trouvent au contact des racines un milieu particulièrement favorable à leur multiplication : 1° les sulfates abondent puisque l'eau d'irrigation en est chargée et les sols en renferment de grandes quantités ; 2° l'oxygène est absent car la diffusion de l'oxygène jusqu'à la rhizosphère est arrêtée par l'excès d'eau du sol ; 3° la rhizosphère renferme des quantités élevées de substrats provenant des exsudats, dont les variations d'éclairement de la plante (liées aux variations de nébulosité) accélèrent la production. Cette activation de la sulfato-réduction se traduit par un dégagement intense d'hydrogène sulfuré, qui réagit sur le fer contenu dans le sol, d'où l'apparition autour des racines d'une gaine de sulfures de fer très nettement visible *in situ* (fig. 154 et 155, tableau LXXX).

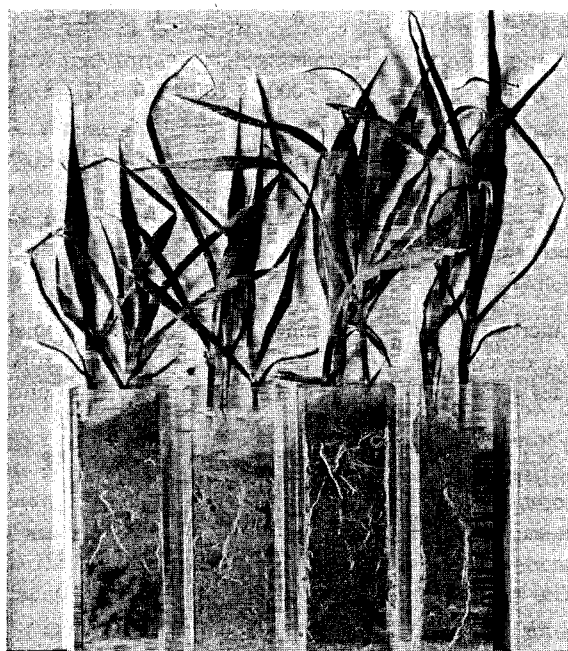


FIG. 154.



FIG. 155.

FIG. 154. — *Mise en évidence expérimentale des conditions édaphiques régissant le processus de sulfato-réduction rhizosphérique dans la rhizosphère d'un Maïs* (DOMMERS et coll., 1969). De gauche à droite : 1, sol salin engorgé ; 2, sol salin maintenu à l'humidité équivalente ; 3, sol brun calcaire engorgé ; 4, sol brun calcaire maintenu à l'humidité équivalente.

La sulfato-réduction se manifeste uniquement en 1.

FIG. 155. — *Agrandissement de la figure 154 montrant le précipité de sulfure de fer qui se forme sur les racines dans le sol salin engorgé.*

TABLEAU LXXX. — INFLUENCE DE L'ENGORGEMENT SUR LES DENSITÉS DE DIFFÉRENTS GROUPES MICROBIENS DANS LA RHIZOSPHERE D'UN MAÏS (INRA 420) CULTIVÉ DANS LE SOL SALIN DE NAKTA, TUNISIE (DOMMERS et coll., 1969 a et b)

GROUPES MICROBIENS	SOL MAINTENU À LA CAPACITÉ AU CHAMP			SOL ENGORGÉ		
	Densité dans rhizosphère (R)	Densité hors rhizosphère (S)	R/S	Densité dans rhizosphère (R)	Densité hors rhizosphère (S)	R/S
Sulfato-réducteurs	44	17	2	550	11	50
<i>Azotobacter</i>	0,8	0,8	1	6	1	6
Ammonificateurs	4 200 000	15 000	280	22 000	4 500	5

N. B. — Les densités sont exprimées en milliers de micro-organismes par g de sol.

II. — TEMPÉRATURE

L'effet de la température sur les micropopulations rhizosphériques n'a pas fait l'objet de recherches poussées à l'exception de celles de l'école canadienne sur Blé et Soja. Le tableau LXXXI dû à ROUATT et ses collaborateurs (1963) montre que les maximums

TABLEAU LXXXI. — INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE SUR LES DENSITÉS BACTÉRIENNES DANS LES RHIZOSPHERES DE BLÉ ET DE SOJA (ROUATT et coll., 1963)

TEMPÉRATURE	SOL HORS RHIZOSPHERE	BLÉ			SOJA		
		Rhizosphère		Rhizoplan (Densité)	Rhizosphère		Rhizoplan (Densité)
		Densité	R/S		Densité	R/S	
30-32 °C (optimale pour le Soja)	167	266	1,6	147	3 571	21,4	138
21-24 °C	120	710	5,9	150	230	1,9	62
13-16 °C (optimale pour le Blé)	78	1 166	15,0	308	186	2,3	28

N. B. — Les résultats sont exprimés en millions d'unités par gramme de sol sec à l'étuve pour la rhizosphère (*sensu stricto*) et par gramme de racines humides pour le rhizoplan.

de densité microbienne correspondant aux optimums thermiques de croissance des deux plantes considérées, soit 30-32 °C pour le Soja et 13-16 °C pour le Blé. On peut expliquer ces résultats par le fait que la température agit sur la microflore rhizosphérique en contrôlant la nature et la quantité des exsudats racinaires. La température agit aussi directement sur les micro-organismes : les variations des densités microbiennes du sol hors rhizosphère en font foi.

III. — LUMIÈRE

L'effet de la lumière s'exerce par l'intermédiaire de la plante car la lumière — comme la température — agit sur la composition quantitative et qualitative des exsudats racinaires (ROVIRA, 1965b).

Lorsque l'éclairement de la plante passe de 3 000 à 10 000 lux, on a démontré (KATZNELSON, 1960), dans le cas d'une rhizosphère de Blé, que les *populations bactériennes* sont nettement favorisées. Les densités totales s'élèvent de $3\,000 \times 10^6$ (éclairement de 3 000 lux) à $7\,900 \times 10^6$ (éclairement de 10 000 lux). L'effet stimulant est particulièrement marqué pour les ammonificateurs, dont la densité est multipliée par 80. Parallèlement, la proportion des Bactéries exigeantes en acides aminés, qui est de 30 % au faible éclairement (3 000 lux), atteint 65 % pour l'éclairement de 10 000 lux, ce qui s'explique bien par une activation de l'exsudation racinaire d'acides aminés et d'autres produits organiques. Par contre, dans cette rhizosphère de Blé, les *populations fongiques* ne réagissent pas significativement aux variations de l'éclairement, vraisemblablement parce que les Champignons se développent plutôt aux dépens de cellules exfoliées et de débris racinaires divers qu'aux dépens d'exsudats comme le font les Bactéries. Cette indifférence des Champignons rhizosphériques aux conditions d'éclairement de la plante ne semble toutefois pas être générale, car d'autres expériences — portant cette fois sur le Hêtre — ont montré que la lumière influe nettement sur la population fongique des racines, comme elle influe sur les mycorrhizes (HARLEY et WAID, 1955b).

On n'a pas encore comparé l'effet d'éclairement de 3 000 et 10 000 lux à celui d'éclairements plus intenses de l'ordre de 60 000 à 100 000 lux ; mais il est probable que des recherches effectuées dans ce sens mettraient en évidence des variations considérables dans la composition de la microflore rhizosphérique en fonction de l'intensité de l'éclairement *in situ*, qui peut osciller, pendant le jour, entre 100 000 (ciel clair) et 10 000 à 20 000 lux (ciel nuageux) (ROVIRA, 1965b).

IV. — FERTILISATION DU SOL

L'application d'engrais minéraux ou/et organiques est parfois sans action sur les populations rhizosphériques. Mais, le plus souvent, elle induit une stimulation qui se manifeste par un accroissement de la densité absolue des micro-organismes de la rhizosphère. Cet accroissement de densité peut aller de pair avec une diminution du rapport R/S si la fertilisation stimule en même temps plus fortement la microflore du sol hors rhizosphère. L'action des fertilisants s'exerce à la fois directement sur la microflore et indirectement par l'intermédiaire de la plante, dont la nutrition est améliorée. De même que les éléments majeurs, les oligo-éléments peuvent induire une stimulation de la microflore rhizosphérique : une telle stimulation a été obtenue avec des applications de Mn, Zn, B sur Coton (SADASIVAN, 1965).

V. — APPLICATIONS FOLIAIRES

Il est établi, de façon indiscutable, que les applications foliaires de produits organiques ou minéraux agissent sur les plantes non seulement par effet direct en améliorant leur nutrition ou en les protégeant contre les micro-organismes phytopathogènes, mais en modifiant la composition de la microflore rhizosphérique.

On examinera successivement les effets, sur la microflore de la rhizosphère, de composés nutritifs, d'antibiotiques et antifongiques, de régulateurs de croissance appliqués sur les parties aériennes des plantes.

1° Composés nutritifs

Parmi ceux-ci, le plus étudié est certainement l'urée dont l'application entraîne des modifications profondes, mais fugaces, dans la composition quantitative et qualitative de la microflore rhizosphérique.

A titre d'exemple, nous citerons les travaux de VRANÝ (1965) sur le Blé, d'où il ressort que l'application foliaire d'urée stimule préférentiellement les Bactéries, alors qu'elle inhibe les Champignons et que son effet, marqué les premiers jours, s'estompe rapidement par la suite (tableau LXXXII). La composition qualitative est aussi modifiée puisque l'application d'urée favorise les Bactéries exigeantes en facteurs de croissance (leur pourcentage passe de 20 à 34 %) par rapport aux Bactéries à pouvoir de synthèse élevé ; les *Fusarium* sont rapidement (2 à 3 jours après l'application) favorisés par rapport aux *Penicillium*, qui dominent dans le témoin ; les *Mucor* sont stimulés beaucoup plus tardivement (7 à 14 jours après l'application).

Ces recherches de VRANÝ sur le Blé confirment les travaux antérieurs de VENKATA RAM (1960) sur *Camelia sinensis* mais diffèrent de ceux effectués par RAMACHANDRA-REDDY (1959), qui, par application d'urée sur les feuilles de Riz, a obtenu une réduction du nombre des Bactéries et des Actinomycètes et une augmentation de la densité des *Penicillium*. Une telle stimulation des *Penicillium* a également été observée par AGNIHOTRI (1964) sur le Blé.

TABLEAU LXXXII. — INFLUENCE DE L'APPLICATION FOLIAIRE D'URÉE
SUR LA DENSITÉ DES BACTÉRIES ET DES CHAMPIGNONS DANS LE RHIZOPLAN DU BLÉ
(VRANÝ, 1965)

	NOMBRE DE JOURS ÉCOULÉS APRÈS L'APPLICATION FOLIAIRE	DENSITÉ DANS LE RHIZOPLAN (a)		DENSITÉS DES MICRO-ORGANISMES DANS LE RHIZOPLAN DES PLANTES TRAITÉES, EXPRIMÉES EN % DES TÉMOINS
		Témoin	Application foliaire d'urée	
Bactéries	1	795	993	125
	3	603	994	165
	7	637	914	143
	14	786	874	111
Champignons	1	48	13	27
	3	85	39	47
	7	134	69	52
	14	129	145	112

(a) Les densités de Bactéries sont exprimées en millions et les densités de Champignons en milliers par g de racines séchées.

L'application d'urée peut parfois stimuler des micro-organismes antagonistes de germes pathogènes ; on a ainsi provoqué la prolifération d'Actinomycètes antagonistes de *Fusarium roseum* et *F. cerealis* chez de jeunes plants de Maïs (HORST et HERR, 1962).

L'ensemble des résultats obtenus jusqu'à présent apparaît comme peu cohérent et souvent contradictoire. Il ne faut pas s'en étonner car, pour chacun des cas décrits, les conditions expérimentales (doses d'urée, techniques et dates d'échantillonnage) sont très différentes et les plantes testées sont loin de présenter la même aptitude à utiliser l'urée.

Parallèlement à l'urée, on a essayé l'application d'autres produits organiques (sucres, par exemple), des composés minéraux (phosphates), des chélates de Mn, de Zn, de Cu, de Fe (VAN SCHREVEN, 1959 ; VRANÝ et coll., 1962 ; SADASIVAN, 1965). Comme l'urée, ces composés induisent des perturbations parfois intenses, mais en général de faible durée, de l'équilibre de la microflore rhizosphérique.

2° Antibiotiques et fongicides

Les plantes peuvent absorber les antibiotiques non seulement par les racines (cf. p. 569), mais aussi par leurs feuilles. Cette aptitude a été mise à profit pour l'étude de l'influence de l'application foliaire d'antibiotiques. Certaines de ces substances ne subissent aucune transformation à l'intérieur de la plante et peuvent migrer dans les différents organes et, en particulier, vers les racines, d'où elles peuvent être exsudées : c'est le cas du chloramphénicol (chloromycétine) ; d'autres antibiotiques, au contraire, sont dégradés ou altérés à l'intérieur de la plante et on ne les retrouve pas dans les exsudats racinaires : à ce type appartient la chlortétracycline (auréomycine). Appliqué sur les feuilles de Blé, le chloramphénicol exerce un effet inverse de celui de l'urée : il diminue la densité des Bactéries et augmente celle des Champignons. Les modifications apportées à la composition qualitative de la rhizosphère sont très significatives mais aussi très complexes (VRANÝ et coll., 1962). La streptomycine appliquée sur les feuilles de *Coleus* ne modifie pas les densités des Bactéries et Champignons, mais altère les proportions relatives des Bactéries gram-négatives et gram-positives (DAVEY et PAPAVIDAS, 1961).

En ce qui concerne les fongicides, nous signalerons les travaux déjà anciens de HALLECK et COCHRANE (1950), qui ont obtenu pour les Bactéries, une diminution du rapport *R/S* avec la bouillie bordelaise (à 0,02 % de Cu), avec un colorant fongistatique (vert malachite) et avec un carbamate (dithane), et une augmentation du rapport *R/S* avec deux quinones (Spargon et Phygôn).

3° Phytohormones

Les essais effectués avec divers régulateurs de croissance — dont les acides 2-méthyl-4-chlorophénoxyacétique, 2,4-dichlorophénoxyacétique et 2,3,5-triiodobenzoïque — mettent également en évidence des modifications très importantes dans la composition des micropopulations rhizosphériques. Ainsi, l'application d'acide triiodobenzoïque sur les feuilles de Blé entraîne, comme l'application de chloramphénicol, une stimulation des Champignons et une inhibition des Bactéries (VRANÝ et coll., 1962 ; VRANÝ, 1965).

4° Mécanismes

Pour expliquer l'effet des applications foliaires sur les micropopulations rhizosphériques, on peut faire appel à deux hypothèses :

a) *Hypothèse de l'effet direct.* — La substance appliquée sur les feuilles migre vers les racines, où elle est exsudée et agit ainsi directement sur les micro-organismes ; tel est le cas du chloramphénicol ou de l'acide triiodobenzoïque, qui sont exsudés

effectivement. Cette action directe existe certainement car il a été démontré que l'application de chloramphénicol accroît, dans la rhizosphère, la densité des Bactéries résistant à des concentrations élevées de cet antibiotique.

b) *Hypothèse de l'effet indirect.* — La substance appliquée sur les feuilles altère le métabolisme de la plante et modifie la nature et la quantité des exsudats racinaires et, par là, agit indirectement sur la microflore. Ce deuxième mécanisme intervient seul dans le cas où la substance appliquée est métabolisée ou dégradée par la plante (par exemple, urée) ; il intervient en même temps que le premier mécanisme lorsque la substance appliquée ne subit aucune altération dans le végétal.

5° Conclusion

Les faits que nous venons d'analyser incitent à penser que les applications foliaires pourraient, dans un avenir plus ou moins proche, permettre de contrôler la microflore rhizosphérique et notamment de lutter contre les micro-organismes phytopathogènes ; les résultats obtenus par HORST et HERR, cités plus haut, page 583, sont particulièrement encourageants à ce point de vue. Mais l'obtention de résultats pratiques nécessite, au préalable, de nouvelles recherches approfondies portant sur l'absorption foliaire, la translocation, le métabolisme, les effets sur les parties aériennes et souterraines et sur l'exsudation. Dans l'immédiat, les applications foliaires constituent un outil particulièrement utile pour l'étude des phénomènes rhizosphériques.

VI. — FACTEURS ÉDAPHIQUES DIVERS

On est très mal renseigné sur l'influence de la nature du type pédologique sur l'intensité de l'effet rhizosphérique. Des quelques publications consacrées à ce problème, il ressort que le rapport R/S serait nettement plus élevé dans les sols pauvres en éléments fertilisants minéraux (KATZNELSON et STRZELCZYK, 1961 ; BALLONI et MATERASSI, 1966) ou pauvres en colloïdes organiques et dans les sols arides. Lorsque l'enracinement des végétaux est très dense et est réparti uniformément dans un sol donné — cas des prairies permanentes — l'ensemble du sol présente les caractères de la rhizosphère de la plante considérée et le rapport R/S tend vers 1.

F. — ENGRAIS BACTÉRIENS : BACTÉRIISATION DES NON-LÉGUMINEUSES

On vient de voir que la microflore rhizosphérique joue un rôle considérable dans le développement des végétaux en intervenant notamment dans leur nutrition et en les protégeant contre les germes pathogènes.

Il apparaît normal que, dans ces conditions, l'on essaie de renforcer les effets rhizosphériques favorables en installant dans la rhizosphère des micro-organismes qui exerceront, directement ou indirectement, un effet bénéfique sur la plante. Sur le plan pratique, on cherche à obtenir ce résultat en enrobant les graines (ou les tubercules) avec des cultures pures ou mixtes de Bactéries en espérant que celles-ci coloniseront la rhizosphère de la plante considérée au fur et à mesure du développement de son système racinaire. Cette opération, qui rappelle la bactérisation des Légumineuses avec les *Rhizobium*, est souvent désignée sous le terme de *bactérisation des non-Légumineuses* ou *inoculation bactérienne des graines* ; les cultures bactériennes utilisées dans ce but ont reçu le nom d'*engrais bactériens* ou *microbiens*.

Les premiers essais de bactérisation sont très anciens, puisque, d'après RUBENCHIK (1960) et MACURA (1966), ils remonteraient aux dernières années du siècle dernier ou au début du XX^e siècle. L'emploi d'engrais microbiens à grande échelle s'est développé seulement en URSS et dans les pays de l'Est, où l'on a utilisé, dans la plupart des cas, des préparations à base d'*Azotobacter* (*azotobactérine*), de *Bacillus megaterium* var. *phosphaticum* ou *phospholyticum* (*phosphobactérine*) ou des mélanges de ces deux engrais microbiens. De très nombreux essais, ne dépassant jamais un cadre expérimental limité, ont porté également sur d'autres Bactéries et même des Champignons. En dehors d'*Azotobacter chroococcum* et *Bacillus megaterium*, on a fait appel à divers *Pseudomonas* (*Ps. fluorescens*, *Ps. sinuosa*), à *Clostridium pasteurianum*, à divers *Bacillus*, à des Bactéries nitrifiantes, à des Bactéries des silicates (cf. p. 281).

Les cultures bactériennes utilisées pour l'enrobage des semences se présentent :

- soit à l'état liquide ;
- soit sur support solide : tourbe, sol ;
- soit sous forme lyophilisée.

Les doses sont de l'ordre de 200 à 1 000 ml (cultures liquides) ou 1 à 6 kg (cultures sur support solide) pour la quantité de graines ou de tubercules nécessaires à l'ensemencement d'un ha. On a effectué parfois la bactérisation sur des graines prégermées (MALISZEWSKA, 1961 ; ROVIRA, 1963).

REMARQUE. — Il ne faut pas confondre la *bactérisation des graines*, telle qu'on vient de la définir, avec l'*inoculation du sol* par des micro-organismes tels que des Cyanophycées, cette dernière pratique visant à installer ces micro-organismes photosynthétiques

dans le sol ou dans la lame d'eau le recouvrant et non à obtenir la colonisation de la rhizosphère d'une plante donnée. On a vu antérieurement que, moyennant certaines précautions, l'inoculation des rizières avec des Algues avait permis d'enrichir très sensiblement ces sols hydromorphes en azote et en carbone organiques (cf. p. 404).

1° Effet des engrais microbiens

a) *Effet sur la croissance des plantes et sur les rendements.* — La littérature relatant les résultats d'expériences d'inoculations bactériennes faites dans l'Europe de l'Est et en URSS est extrêmement abondante. Il n'est pas question de l'analyser ici. Nous estimons préférable de ne rapporter que les conclusions de quelques-unes des revues récentes sur ce sujet (COOPER, 1959 ; RUBENCHIK, 1960 ; CHANDRA, 1961 ; SAMTSEVICH, 1962 ; MISHUSTIN et NAUMOVA, 1962 ; ETTLINGER, 1962 ; MACURA, 1966 ; BROWN et coll., 1968), d'où il découle que les essais de bactérisation *au champ* donnent des résultats très irréguliers et souvent peu significatifs, vraisemblablement en raison de l'interférence de facteurs écologiques très complexes dont les expérimentateurs ne sont pas maîtres.

Signalons à titre d'exemple que, sur 23 essais effectués en URSS entre 1958 et 1960, la bactérisation des graines a accru significativement les rendements dans 44 % des cas seulement, les accroissements de rendement ne dépassant pas en général 10 à 12 % (MISHUSTIN, 1966).

b) *Effet sur la composition des tissus végétaux.* — La bactérisation des graines pourrait, semble-t-il, induire une modification de la composition chimique des tissus végétaux. Ainsi, par bactérisation avec l'*azotobactérine*, des chercheurs soviétiques ont obtenu une augmentation de la teneur en azote total et en azote aminé libre des plantes bactérisées (KRASILNIKOV, 1958). Des résultats du même type ont été obtenus par POCHON et CHALVIGNAC (1964) sur le Lin. Ces auteurs ont pu, en outre, déceler des modifications dans la teneur relative des différents acides aminés.

Les recherches dans ce domaine sont encore trop peu développées pour pouvoir en tirer des conclusions définitives ; mais il est possible qu'elles débouchent sur des applications intéressantes dans le domaine de l'amélioration de la qualité des produits agricoles.

c) *Effet sur la croissance et la précocité des plantes cultivées.* — Dans certaines conditions expérimentales, la bactérisation peut stimuler la croissance des tiges (MALISZEWSKA, 1961 ; BROWN et coll., 1964), accroître la précocité de la floraison (ROVIRA, 1963 ; JACKSON et coll., 1964), modifier le rapport parties aériennes/racines (DÉNARIÉ et BLACHÈRE, 1966). Nous reviendrons sur ce problème à propos de l'étude des mécanismes d'action des engrais microbiens (production par les micro-organismes de l'inoculum de substances phytohormonales).

2° Importance du choix et de la sélection des souches microbiennes, problème de l'adaptation

Le succès de la bactérisation est lié à l'utilisation de souches efficaces adaptées au milieu édaphique d'une part, et adaptées à la plante considérée d'autre part. Ces souches doivent présenter, en outre, un pouvoir colonisateur élevé leur permettant de s'installer et de persister dans la rhizosphère. Il semble, en outre, que les associations microbiennes soient appelées à donner de meilleurs résultats que les cultures pures.

a) *Souches efficaces adaptées au milieu édaphique.* — Pour la préparation de l'azotobactérine, RUBENCHIK (1960) est convaincu de la nécessité de substituer aux souches de collection, des souches adaptées aux conditions locales. Les critères prédisant à l'isolement de ces souches d'*Azotobacter* sont les suivants :

- 1° cellules de grande dimension ;
- 2° activité fixatrice d'azote élevée ;
- 3° aptitude à une forte production de substances de type vitaminique et auxinique.

Il faut en moyenne trois années de recherches pour contrôler l'efficacité d'une souche dans les conditions édaphiques où elle doit être utilisée.

b) *Souches adaptées au végétal.* — Différents auteurs soviétiques, dont ZINOVEVA (1950-1958), KRASILNIKOV (1958), cités par RUBENCHIK (1960), ont montré que des passages successifs d'une souche d'*Azotobacter* sur des rhizosphères différentes entraînent l'apparition de nouveaux caractères morphologiques (taille des cellules, structure cellulaire, inclusions granulaires), culturels (formes des colonies, abondance et consistance du mucus), physiologiques (utilisation des diverses sources carbonées, taux de croissance, activité fixatrice d'azote) et biochimiques (activité de certains systèmes enzymatiques). Les propriétés considérées comme utiles sur le plan agronomique, telles que la survie dans la rhizosphère, l'activité fixatrice d'azote, la vitesse de croissance, l'influence favorable sur le développement de la plante, peuvent s'améliorer ou, au contraire, se dégrader au cours de ces passages. *Certaines transformations sont réversibles, d'autres irréversibles, donc transmissibles.*

On conçoit facilement tout l'intérêt que présente, sur le plan pratique, ce phénomène d'adaptation, quelle qu'en soit la nature : adaptation génotypique ou adaptation physiologique (accommodation phénotypique). En URSS, on produit des souches adaptées par culture sur milieux sans sucre, mais complétés avec des exsudats radicellaires de différentes plantes. L'adaptation a permis d'accroître l'efficacité des souches d'*Azotobacter* et de *Bacillus megaterium* var. *phosphaticum*.

En France, POCHON et CHALVIGNAC (1964) ont produit des souches de *Rhizobium*, *Azotobacter* et *Pseudomonas* adaptées au Lin par deux ou trois passages dans la rhizosphère de cette plante. L'inoculation de ces souches adaptées au Lin s'est traduite, par rapport au témoin (souches non adaptées) par : 1° une augmentation de la teneur des

tissus végétaux en azote ; 2° une répartition différente des acides aminés ; 3° une augmentation pondérale.

c) **Pouvoir colonisateur.** -- L'installation d'un micro-organisme dans une rhizosphère dépend de son pouvoir colonisateur, qui, pour une plante donnée, apparaît très variable d'une souche à l'autre. Ainsi, sur Luzerne, *Azotobacter chroococcum* (souche 675 B de ROVIRA) se présente comme un colonisateur très médiocre, alors que *Pseudomonas fluorescens* s'avère exceptionnellement envahissant ; sur Tomate, *Azotobacter* s'installe dans de meilleures conditions, mais reste loin derrière *Clostridium*, *Bacillus* et surtout *Pseudomonas fluorescens* (tableau LXXXIII).

TABLEAU LXXXIII. — COLONISATION DU SYSTÈME RACINAIRE DE QUATRE PLANTES
PAR QUATRE SOUCHES BACTÉRIENNES
(*Azotobacter*, *Clostridium*, *Bacillus*, *Pseudomonas*)
(ROVIRA, 1963)

SOUCHE	INOCULUM (EN MILLIERS DE CELLULES BACTÉRIENNES)	NOMBRE DE BACTÉRIES PAR GRAMME DE RACINE			
		Luzerne	Maïs	Tomate	Blé
<i>Azotobacter</i> (souche 675 B)	1 000	< 1 000	< 1 000	40 000	1 000
<i>Clostridium</i> (souche 689)	300	400 000	4 000 000	320 000	3 200 000
<i>Bacillus</i> (souche 710)	2 000	800 000	8 000 000	360 000	16 000 000
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	500	5 000 000	800 000 000	4 000 000	80 000 000

KATZNELSON et STRZELCZYK (1961) et MISHUSTIN (1966) estiment également que les *Azotobacter* sont de mauvais colonisateurs. Toutefois, il existe, semble-t-il, des souches d'*Azotobacter chroococcum* susceptibles de coloniser activement le système racinaire : tel est le cas de la souche A 6 de JACKSON et BROWN (1966) qui se développe et se multiplie non seulement dans la rhizosphère du Blé mais aussi à la surface des racines, c'est-à-dire dans le rhizoplan (fig. 156).

Le pouvoir colonisateur des micro-organismes reste encore mal connu, mais l'étude de cette propriété semble être nécessaire si l'on veut améliorer les résultats de la bactérisation des semences.

d) **Associations de micro-organismes.** -- Les mélanges d'engrais microbiens sont souvent plus efficaces que les engrais employés isolément ; ainsi l'efficacité de la phosphobactérine est améliorée par l'azotobactérine. Cette stimulation s'explique par l'existence d'interactions de type synergique entre *Bacillus megaterium* et *Azotobacter chroococcum*. Des résultats favorables ont été obtenus également en URSS et en

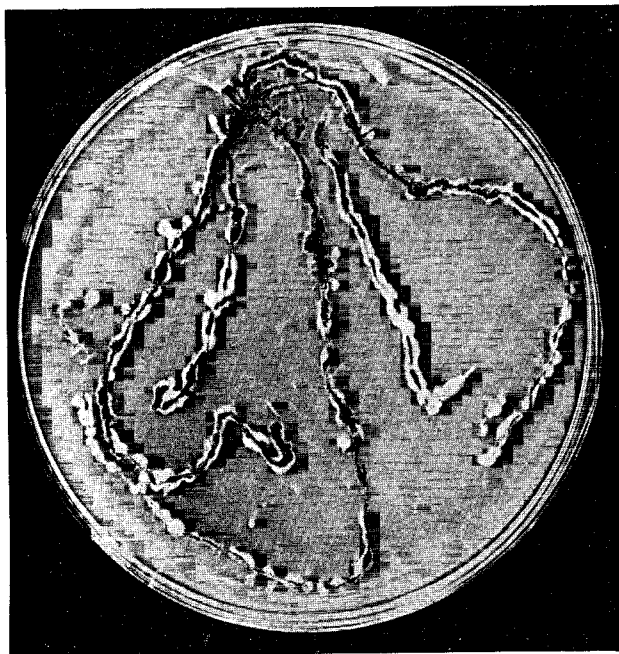


FIG. 156. — Rhizosphère de Blé âgée de 19 jours, inoculée avec *Azotobacter chroococcum*, après incubation sur un milieu gélosé dépourvu d'azote (JACKSON et BROWN, 1966).

Pologne, lors de l'application simultanée d'azotobactérine et de nitragine (culture de *Rhizobium*) sur des Légumineuses ; les mélanges les plus efficaces ont été réalisés avec *Azotobacter*, *Rhizobium* et *Pseudomonas* (RUBENCHIK, 1960 ; MALISZEWSKA, 1961).

Malgré ces premiers résultats encourageants, il faut reconnaître que l'étude des engrais préparés à partir d'associations synergiques de micro-organismes, appelés parfois engrais polybactériens, n'a pas encore dépassé le stade exploratoire.

3° Importance des facteurs édaphiques

La bactérisation des graines est vouée à l'échec si le sol ne présente pas un certain nombre de caractéristiques favorables.

a) **L'humidité.** — C'est un facteur très important. L'optimum pour l'azotobactérine correspondrait à 40 % de la capacité de rétention. Les cultures irriguées réagissent particulièrement bien à l'application d'azotobactérine. La phosphobactérine serait, par contre, moins exigeante en eau (COOPER, 1959).

b) **La teneur en matière organique.** — Elle doit être suffisante pour assurer le développement des micro-organismes apportés au sol. C'est pourquoi les auteurs

soviétiques prescrivent constamment, parallèlement à la bactérisation, l'application d'amendements organiques divers : fumier (30 t/ha), enfouissement de paille, composts variés souvent à base de tourbe (RUBENCHIK, 1960). Cette interaction favorable « bactérisation $\times$ engrais organique » a été confirmée par des expériences en pots portant sur *Eleusine coracana* (SUNDARA RAO et coll., 1963b).

c) **La teneur du sol en éléments minéraux assimilables.** — Elle joue aussi un rôle capital, qui a bien été mis en évidence expérimentalement par ROVIRA (1963). L'application d'engrais P, NP ou NPK s'avère souvent nécessaire à l'apparition de l'effet positif de la bactérisation. Les oligo-éléments (Mn, B) ont parfois donné de bons résultats en association avec la bactérisation des semences.

d) **Le pH doit être assez élevé.** — Il doit permettre le développement des micro-organismes neutrophiles (*Azotobacter*) ; il convient de signaler, à ce propos, que les sols acides sont défavorables en raison de la toxicité de l'aluminium libre, qui est abondant aux pH faibles.

e) **Les types pédologiques.** — Certains d'entre eux, notamment les podzols et sols podzoliques, ne réagissent favorablement à la bactérisation qu'après avoir reçu des amendements massifs. D'après RAKHNO et RYYS (1963), l'*azotobactérine* n'a aucun effet ou seulement un effet infime sur les sols ne renfermant pas d'*Azotobacter* ; elle augmente, par contre, significativement, les rendements dans la plupart des sols renfermant des *Azotobacter*, cet accroissement de rendement étant très grossièrement proportionnel à la teneur du sol en matière organique et à son niveau cultural.

4° Mécanisme d'action des engrais microbiens

On a proposé trois hypothèses majeures pour expliquer le mécanisme d'action des engrais microbiens :

a) **Mise à la disposition de la plante de l'azote fixé par les micro-organismes.** — Cette hypothèse, qui ne s'applique qu'à la bactérisation avec des micro-organismes fixateurs d'azote (*Azotobacter*, *Clostridium*, *Bacillus*, par exemple), est la plus ancienne. Il est effectivement des cas où la bactérisation augmente le taux de l'azote dans le sol ; mais il n'est pas prouvé que cette augmentation du taux d'azote bénéficie à la plante cultivée. On ne connaît d'ailleurs pas le processus suivant lequel la plante utiliserait l'azote fixé par l'*Azotobacter* ; il pourrait s'agir de l'azote ammoniacal excrété par ce micro-organisme ; il pourrait aussi s'agir de produits de lyse protéolytique ou d'autolyse des cellules bactériennes.

De nombreux chercheurs ont abandonné cette hypothèse, dont ROVIRA (1963), BROWN et ses collaborateurs (1964), MISHUSTIN et ses collaborateurs (1964), MISHUSTIN (1966). Ils s'appuient essentiellement sur le fait que, même dans les conditions les plus favorables,

la proportion de micro-organismes fixateurs d'azote dans la rhizosphère ne représente jamais plus de 1 % de la microflore totale et sur le fait que la masse des exsudats racinaires n'est pas suffisante pour assurer une fixation d'azote significative sur le plan agronomique. En ce qui concerne ce dernier point, MISHUSTIN (1966) fait le calcul suivant : pour une parcelle de Blé donnant un rendement en matière sèche de 5 000 kg/ha, la masse des exsudats racinaires (qui représente environ 5 % de la masse organique synthétisée par la plante) est donc d'environ 250 kg. Comme il est difficile d'admettre que l'*Azotobacter* bénéficie de plus de 10 % de la masse des exsudats en raison de la concurrence des autres micro-organismes, on considère qu'il dispose d'un poids de substrat énergétique de l'ordre de 25 kg. On sait d'autre part que son rendement de fixation est de 10 à 20 mg d'azote par g de substrat énergétique, de sorte que la fixation est comprise entre 0,25 et 0,50 kg N/ha. Cette quantité équivaut à une application de 1,3 à 2,0 kg de NaNO_3 , application qui est trop faible pour induire une augmentation significative du rendement.

b) Production de substances stimulant la croissance des plantes. — On a vu, lors de l'étude de la rhizosphère, que les micro-organismes telluriques étaient capables de synthétiser des substances douées d'activité biologique intense telles que les vitamines ou les phytohormones. Actuellement, on pense que la bactérisation agirait souvent sur les plantes par l'intermédiaire des substances phytohormonales synthétisées par les micro-organismes dont on a provoqué la multiplication dans la rhizosphère. Mais s'il est facile de démontrer, à l'aide de tests classiques, la production *in vitro* par des Bactéries de substances vitaminiques ou phytohormonales, on n'a pas, jusqu'à présent, prouvé de façon irréfutable que la production de ces substances *dans la rhizosphère* était suffisante pour agir effectivement sur les plantes. On remarquera enfin que, dans beaucoup de cas, on ne connaît pas la nature chimique des substances régulatrices de la croissance végétale synthétisées par les micro-organismes.

c) Protection sanitaire. — La bactérisation des graines parvient parfois à limiter ou même inhiber les attaques des pathogènes. L'expérience simple suivante montre bien l'efficacité de cette méthode. Elle consiste à comparer la germination sur du papier filtre humide d'un lot de graines trempées dans l'eau (graines témoins) et de graines bactérisées avec une culture d'*Azotobacter chroococcum* ; alors que les jeunes racines des graines du premier lot se couvrent rapidement de Champignons, les graines bactérisées restent intactes (MISHUSTIN, 1966).

L'influence protectrice de la bactérisation des graines par *Azotobacter* ressort aussi de l'observation suivante. Dans un sol contaminé par *Ophiobolus graminis*, la bactérisation augmente le poids des épis de 34 % par rapport aux témoins ; par contre, en sol sain, la bactérisation est sans effet (BROWN et coll., 1964).

L'azotobactérine réduit le nombre d'accidents dus à la pourriture des racines chez la Betterave (COOPER, 1959). Le même engrais bactérien appliqué sur des sols sableux de la station soviétique expérimentale du Pôle réduit la fréquence de *Streptomyces scabies* sur Pomme de terre de 78 % dans les témoins, à 3 % seulement chez les plants traités (RUBENCHIK, 1960).

La bactérisation avec *Bacillus megaterium* peut aussi limiter les attaques des Champignons phytopathogènes. Ainsi, dans un essai effectué au champ avec du Millet infecté avec *Sphacelotheca panici miliacei*, MENKINA (1963) réduit de 80 % le pourcentage des plantes malades par la bactérisation avec *B. megaterium*.

On peut invoquer trois types de mécanismes pour expliquer l'effet protecteur des engrais microbiens :

1° *Antagonisme direct.* — Les micro-organismes introduits dans la rhizosphère par l'engrais microbien seraient eux-mêmes antagonistes des micro-organismes phytopathogènes ; c'est le cas des micro-organismes producteurs de substances fongistatiques.

2° *Antagonisme indirect.* — Les micro-organismes introduits dans la rhizosphère par l'engrais bactérien stimuleraient des micro-organismes antagonistes des micro-organismes phytopathogènes. A l'appui de cette théorie, on peut faire appel aux travaux de NOVAK et DVORAKOVA, cités par RUBENCHIK (1960), d'où il ressort que l'*Azotobacter* stimule la croissance de divers *Pseudomonas* antagonistes vis-à-vis des Champignons pathogènes des genres *Alternaria*, *Venturia*, *Sclerotinia*, *Rhizoctonia* et *Pythium*.

3° *Stimulation de la croissance de la plante* (voir paragraphe précédent).

Hypothèses secondaires. — Parmi les autres hypothèses avancées pour expliquer l'effet favorable de la bactérisation, signalons les suivantes :

1° Les engrais microbiens interviendraient dans la dégradation des toxines nuisibles aux plantes qui s'accumulent dans le sol, cette action propice ne pouvant s'obtenir en aucun cas par l'adjonction d'engrais minéraux (cf. p. 571).

2° L'application d'engrais microbiens à base d'*Azotobacter* induirait un accroissement du nombre total des micro-organismes dans la rhizosphère de diverses plantes : certains groupes physiologiques seraient stimulés, dont les ammonifiants, les nitrificateurs et les cellulolytiques. Cette stimulation aurait un effet bénéfique sur la nutrition des plantes traitées.

3° Les engrais microbiens du type azotobactérine, en installant dans la rhizosphère une microflore *non concurrente* de la plante, la protégeraient ainsi contre la concurrence de micro-organismes exigeants en azote.

4° Les engrais microbiens du type phosphobactérine agiraient en libérant dans le sol plus de phosphore assimilable que n'en consomme *B. megaterium* et en minéralisant l'azote ammoniacal à partir de la matière organique du sol.

5° Conclusion

L'inoculation des graines ou bactérisation, est restée très longtemps empirique : jusqu'à ces dernières années, l'expérimentation en vase de végétation ou au champ elle-même n'a fait que rarement l'objet d'analyses statistiques sérieuses ; fait encore plus grave, les expérimentateurs se sont trouvés souvent dans l'impossibilité de contrôler certains facteurs écologiques, dont l'influence est parfois telle qu'elle masque ou déforme les effets de la bactérisation proprement dite. On conçoit très bien que, dans ces conditions, les résultats publiés aient souvent été critiqués à juste titre. On voit cependant, depuis peu, se développer toute une gamme de recherches qui, se fondant sur une meilleure connaissance de l'effet rhizosphérique, permettront d'asseoir les principes de l'inoculation sur des bases scientifiques solides. Certains résultats ont été obtenus récemment dans le domaine de l'adaptation de souches microbiennes et dans celui de l'influence de la microflore rhizosphérique sur le métabolisme des végétaux ; mais de grands progrès sont encore nécessaires avant de maîtriser le problème comme l'est celui de la bactérisation avec les *Rhizobium*.

Dans l'état actuel de nos connaissances, il est difficile de prévoir le développement futur de la bactérisation. Un certain nombre de faits incitent cependant à penser que l'emploi de cette technique restera limité : 1° à certaines variétés végétales sensibles à l'effet rhizosphérique, tout au moins dans les premières phases de leur croissance ; 2° à certains types de sol : citons à ce propos les résultats excellents obtenus par BALICKA et SOBIESZCZANSKI (1964) dans des sols nouvellement récupérés qui se prêtent remarquablement bien à la bactérisation.

CHAPITRE IV

LA SYMBIOSE RHIZOBIUM - LÉGUMINEUSE

A côté des associations parfois très lâches qui s'établissent au niveau des racines entre les micro-organismes telluriques et les plantes supérieures (effet rhizosphérique), il existe des associations beaucoup plus étroites qui retiennent plus profondément sur le métabolisme des végétaux : ce sont les associations symbiotiques. Ces associations font intervenir des Champignons (associations mycorrhiziennes) ou des Bactéries (associations symbiotiques *Rhizobium*-Légumineuses) ou des micro-organismes souvent encore non identifiés (associations symbiotiques avec des non-Légumineuses).

Dans ce chapitre, nous étudierons l'association symbiotique *Rhizobium*-Légumineuse, dont le siège se trouve à l'intérieur de *nodosités* (*nodules*) qui se développent sur les racines. Cette association présente un caractère bénéfique très net pour la plante-hôte, qui utilise pour son propre compte l'azote atmosphérique fixé par les *Rhizobium* ; de son côté, la Bactérie trouve dans la nodosité un milieu nutritif favorable que la plante met à sa disposition. Depuis l'isolement des *Rhizobium* par BEIJERINCK, en 1888, un nombre extraordinaire de travaux a été consacré à l'étude de cette symbiose en raison de son intérêt agronomique et économique considérable : on évalue actuellement la fixation annuelle mondiale d'azote par voie symbiotique à 10^8 tonnes, soit à peu près dix fois la production annuelle actuelle d'engrais commerciaux ($1,2 \times 10^7$ t d'après la F.A.O., 1963).

Il ne saurait être question, ici, d'analyser les résultats des travaux consacrés aux *Rhizobium* jusqu'à ce jour, pour lesquels d'excellentes revues ont été publiées (NORRIS, 1956 ; NUTMAN, 1965 ; VINCENT, 1965). C'est seulement sous son aspect écologique que nous présenterons ici la symbiose *Rhizobium*-Légumineuse, en étudiant successivement :

- la mise en évidence de la fixation symbiotique chez les Légumineuses nodulées ;
- les deux éléments de l'association (la Légumineuse et le *Rhizobium*) ;
- l'association elle-même (formation du nodule et fixation de l'azote) ;
- les facteurs écologiques majeurs influant sur la fixation symbiotique ;
- les problèmes pratiques et théoriques soulevés par la bactérisation des semences.

A. — MISE EN ÉVIDENCE DE LA FIXATION SYMBIOTIQUE D'AZOTE CHEZ LES LÉGUMINEUSES

C'est BOUSSINGAULT qui, dès 1838, mit en évidence l'aptitude des Légumineuses à utiliser l'azote atmosphérique. Mais c'est seulement cinquante ans plus tard que HELLRIEGEL et WILFARTH démontrèrent de façon indiscutable que seules les Légumineuses nodulées sont capables de fixer l'azote atmosphérique et que le siège de la fixation se trouve dans les nodules, qui résultent eux-mêmes de l'infection des racines par des Bactéries du sol (NUTMAN, 1965). Les expériences de HELLRIEGEL et WILFARTH consistaient simplement à cultiver des Pois dans : 1° du sable stérile ; 2° du sable non stérile ; 3° du sable stérile additionné d'extrait de sol, avec ou sans apport d'azote combiné. *En présence d'azote combiné*, la croissance de la Légumineuse était partout satisfaisante. Mais, *en l'absence d'azote combiné* : 1° les Pois cultivés sur sable stérile ne nodulaient pas et se développaient très mal ; 2° les Pois cultivés sur sable non stérile se développaient bien seulement s'ils possédaient des nodules ; 3° les pois cultivés sur sable stérile additionné d'extrait de sol nodulaient bien et présentaient une croissance satisfaisante, souvent comparable à la croissance obtenue avec un apport d'azote combiné. Les résultats de HELLRIEGEL et WILFARTH ont été confirmés ultérieurement par d'innombrables expériences.

La méthode classique d'étude du pouvoir fixateur d'azote chez les Légumineuses — méthode qui donne toute satisfaction dans tous les types de symbiose à vitesse de fixation rapide — consiste à comparer la teneur en azote de Légumineuses nodulées et non nodulées cultivées en l'absence d'azote combiné, le gain en azote total des plantes nodulées par rapport aux plantes non nodulées donnant une mesure de la fixation d'azote par la Légumineuse.

La méthode moderne fondée sur l'emploi d'azote ^{15}N confirme les résultats obtenus par la méthode classique. Elle a, en particulier, permis de vérifier que le siège de la fixation se trouve dans les nodules : en effet, des nodules excisés, c'est-à-dire détachés de la Légumineuse, fixent facilement l'azote ^{15}N , alors que les autres organes de la plante ne présentent aucun enrichissement. Mais, chez les nodules excisés, l'aptitude à fixer l'azote est de courte durée, ce qui implique que la plante-hôte intervient aussi dans la fixation par les substances qu'elle fournit au nodule. On verra que tous les nodules ne fixent pas l'azote : on appelle *effectifs* (efficents), les nodules capables de fixer l'azote, alors que les nodules *ineffectifs* (inefficients) ne sont doués d'aucun pouvoir fixateur (cf. *infra*, p. 615).

Comme pour l'étude de la fixation d'azote par les micro-organismes libres (p. 180), on utilise parallèlement à la méthode isotopique, une méthode d'appréciation de l'activité de la nitrogénase fondée sur la réduction de l'acétylène en éthylène (KOCH et EVANS, 1966).

B. — PREMIER ÉLÉMENT DE L'ASSOCIATION : LA LÉGUMINEUSE-HÔTE

Les Légumineuses, on le sait, comprennent trois grandes sous-familles : les Césalpi-noïdées, les Mimosoïdées, les Papilionoïdées. Les deux premières sont presque exclusi-vement localisées aux régions tropicales avec quelques exceptions importantes : *Cercis*, *Gleditschia* et *Ceratonia* (Césalpinoïdées) d'une part et *Acacia* (Mimosoïdées) d'autre part. La troisième sous-famille (Papilionoïdées) renferme la majorité des genres tem-pérés.

Une étude systématique portant sur 1 200 espèces, parmi les 10 000 à 12 000 que compte la famille des Légumineuses, a révélé la présence de nodosités sur 90 % de ces espèces examinées (ALLEN et BALDWIN, 1954). La majorité des espèces nodulées se rencontre dans la sous-famille des Papilionoïdées (85 à 90 %). Les Césalpinoidées sont beaucoup plus souvent dépourvues de nodules. Les Mimosoïdées occupent une position intermédiaire. Un sondage plus récent, mais portant sur un petit nombre d'espèces en zone aride et subaride (BEADLE, 1964), confirme le pourcentage d'espèces nodulées établi par ALLEN et BALDWIN. BEADLE souligne également la position privilégiée des Papilio-noïdées et des Mimosoïdées ; il note, en outre, une plus grande fréquence de la nodu-lation chez les espèces herbacées. Il faut toutefois interpréter avec prudence de tels sondages car la mise en évidence de la nodulation chez une Légumineuse n'est pas aussi aisée qu'on peut le penser *a priori* ; en effet :

1° des conditions écologiques défavorables peuvent localement interdire la nodu-lation chez une espèce qui, ailleurs, possède des nodules très développés (cf. p. 624) ;

2° chez les espèces de Légumineuses pérennes, les nodules peuvent disparaître à certaines époques de l'année (cycle de nodulation), de sorte que l'aptitude à noduler peut passer inaperçue si l'examen des racines a lieu à une époque défavorable (NORRIS, 1956) ;

3° certaines Légumineuses portent de fausses nodosités (qui ne sont pas des galls de Nématodes), telles que celles qui ont été signalées sur *Arachis* par divers auteurs (cf. p. 613) et qui, lors d'un examen superficiel, peuvent prêter à confusion. Il est probable que le développement des prospections intéressant la distribution de la nodulation chez les Légumineuses spontanées dans les régions tropicales, semi-arides ou boréales (ALLEN et coll., 1964) conduira à reviser sensiblement les pourcentages admis actuellement.

A l'intérieur d'une même espèce de Légumineuse, il peut exister des variations importantes dans l'aptitude à la symbiose rhizobienne ; c'est ainsi que la nodulation ou l'efficacité de la fixation d'azote moléculaire dépendent non seulement de déterminants génétiques propres à chaque souche de *Rhizobium* infectant, mais aussi de déterminants génétiques propres à chaque variété de Légumineuse infectée (cf. pp. 615 et 616).

Notons enfin que les Légumineuses — notamment les espèces non nodulées — pourraient vivre en association avec des Champignons mycorrhiziens (MÜLLER et FRÉMONT, 1935).

C. — DEUXIÈME ÉLÉMENT DE L'ASSOCIATION : LE RHIZOBIUM

Le *Rhizobium* appartient à la famille des Rhizobiacées qui compte, en outre, deux autres genres : *Agrobacterium* et *Chromobacterium*. On verra à la fin de ce paragraphe que, mise à part l'aptitude à former des nodules chez les Légumineuses, les affinités entre certains *Agrobacterium* (*A. radiobacter* et *A. tumefaciens*) et les *Rhizobium* sont si grandes que certains auteurs ont proposé l'inclusion de ces *Agrobacterium* dans le genre *Rhizobium* (BONNIER, 1953 ; GRAHAM, 1964).

1° Morphologie et cytologie des « *Rhizobium* »

Pour présenter la morphologie des *Rhizobium*, il est nécessaire de distinguer les *Rhizobium* sous leur forme végétative et les *Rhizobium* sous leur forme bactéroïde.

a) **Morphologie et cytologie des *Rhizobium* non bactéroïdes.** — Nous désignons sous le terme de *Rhizobium* non bactéroïdes les *Rhizobium* tels qu'on les trouve dans la rhizosphère, le cordon d'infection ou sur les milieux de culture artificiels. La morphologie de la Bactérie est d'ailleurs très voisine dans tous les cas (VINCENT, 1966).

Les *Rhizobium* non bactéroïdes sont des micro-organismes typiquement gram-négatifs, très mobiles quand ils sont jeunes ; on les désigne alors sous le nom de *swarmers*.

Les *Rhizobium* non bactéroïdes produisent une gomme hydrosoluble abondante qui, par hydrolyse, donne du glucose et, chez de nombreuses souches, de l'acide galacturonique. Ce produit gommeux pourrait intervenir en tant qu'agent agrégatif dans le sol (cf. p. 361).

1° **Taille et forme.** — Les *Rhizobium* non bactéroïdes se présentent sous la forme de bâtonnets réguliers de 0,6 à 0,8 μ de large sur 1 à 4 μ de long.

2° **Membranes bactériennes.** — L'observation au microscope électronique met en évidence :

— une membrane externe ou paroi cellulaire ;

- une membrane intermédiaire ;
- une membrane interne ou membrane cytoplasmique.

3° **Structure interne.** — Les *Rhizobium* non bactéroïdes renferment :

- a) des *granules de poly-β-hydroxybutyrate* très réfringents, dont l'abondance est fonction de l'âge et des conditions culturales. Ces granules sont à l'origine d'interprétations erronées concernant la cytologie du *Rhizobium* : cycles, endospores... ;
- b) des *corpuscules polaires* de 10-30 mμ opaques au microscope électronique ;
- c) une *zone centrale nucléoïde fibrillaire*.

b) **Morphologie et cytologie des bactéroïdes.** — 1° **Taille et forme.** — Chez les groupes *Rh. trifolii*, *Rh. meliloti* et *Rh. leguminosarum*, les formes bactéroïdes ont une taille à peu près dix fois plus grande que les formes non bactéroïdes. Par contre, il n'y a pas de différence importante de taille entre les deux formes bactériennes chez les *Rhizobium* des groupes *Vigna* (cow-pea) et *Lotus*.

En ce qui concerne l'irrégularité morphologique, il existe aussi deux types de bactéroïdes : 1° les bactéroïdes très irréguliers, en massue, raquette, X, Y, T, que l'on rencontre chez *Rh. trifolii*, *Rh. meliloti* et *Rh. leguminosarum* ; 2° les bactéroïdes à forme plus régulière, qui sont la règle chez les *Rhizobium* du groupe *Vigna*.

2° **Membranes des bactéroïdes.** — En plus des membranes décrites chez les formes non bactéroïdes (paroi cellulaire, membrane intermédiaire et membrane cytoplasmique), de nombreuses formes bactéroïdes (*Rh. trifolii*, *Rh. leguminosarum*, par exemple) présentent des *membranes intracytoplasmiques* qui sont des invaginations de la membrane cytoplasmique comparables aux mésosomes décrits chez d'autres Bactéries et pourraient avoir une fonction mitochondriale. Ces membranes intracytoplasmiques sont absentes ou discrètes chez les Bactéries de certaines Légumineuses (*Vigna*, *Acacia*, *Medicago*, par exemple).

3° **Membrane enveloppante** (*membrane envelope* des auteurs de langue anglaise). — On a cru pendant longtemps que les bactéroïdes étaient libres dans le cytoplasme de la cellule-hôte. La microscopie électronique de coupes de nodules a révélé que ces bactéroïdes sont en fait enveloppés d'une membrane (fig. 160 et 161). Celle-ci entoure un seul bactéroïde (*Trifolium*, *Medicago*, *Stylosanthes*, *Lupinus*, *Vicia*) ou plusieurs (*Soja*, *Lotus*, *Vigna*, *Acacia*, *Ononis*, *Ornithopus*).

Tout comme la membrane entourant le cordon d'infection, la membrane enveloppante ne serait pas d'origine bactérienne, mais serait produite par les cellules de la plante-hôte. Un argument en faveur de cette origine de la membrane enveloppante réside dans le fait que l'hôte exerce un contrôle direct sur le groupement des bactéroïdes à l'intérieur de cette membrane : si l'on inocule un *Lupinus* et *Ornithopus sativus* (Séradelle) avec une même souche de *Rhizobium* (*Rh. Lupini* WV7), les bactéroïdes se trouvent isolés

dans les cellules de la première Légumineuse et groupés dans les cellules de la deuxième Légumineuse (KIDBY et GOODCHILD, 1966).

4° **Structure interne.** — La structure interne des *bactéroïdes* diffère parfois considérablement de la structure interne des formes non *bactéroïdes*. Tel est le cas de *Rh. trifolii*, chez lequel on observe la disparition des granules de poly- β -hydroxybutyrate et des corpuscules polaires, et une désorganisation de la zone centrale nucléoïde. Il n'en est pas de même pour tous les *Rhizobium*. On pourra consulter à ce sujet l'excellente mise au point de VINCENT (1966).

Si l'importance des différences qui séparent certaines caractéristiques morphologiques ou de la structure interne des formes *bactéroïdes* et des formes non *bactéroïdes* varie considérablement d'une Légumineuse à l'autre, il est un caractère particulier que l'on retrouve chez tous les *bactéroïdes* : c'est la présence de la *membrane enveloppante* qui isole, dans une certaine mesure, la Bactérie de l'hôte. Son rôle est discuté : on peut supposer qu'elle jouerait le rôle d'un sac à dialyse et qu'elle séparerait certains composés du *bactéroïde* de ceux de l'hôte qui, sans elle, risqueraient de réagir immunologiquement (NUTMAN, 1965). L'intervalle entre la paroi du *bactéroïde* et la membrane enveloppante pourrait aussi retenir certains produits actifs (dont l'hémoglobine) à proximité de la cellule-hôte et de la Bactérie, tout en les empêchant de pénétrer dans l'une et l'autre.

2° Caractères cultureux

Les milieux de culture pour *Rhizobium* doivent renfermer :

- 1° une source de carbone ;
- 2° de l'azote combiné ;
- 3° divers sels minéraux ;
- 4° souvent une ou plusieurs vitamines.

Les *Rhizobium* utilisent de très nombreux hydrates de carbone : monosaccharides, disaccharides et, accessoirement, trisaccharides et polysaccharides ; mais il existe, à ce point de vue, de grandes variations qui ont été utilisées conjointement à d'autres tests comme critères distinctifs entre souches ou même entre espèces.

En ce qui concerne l'azote combiné, il est indispensable de l'ajouter au milieu car, en dehors de la plante-hôte, les *Rhizobium* se révèlent incapables de fixer l'azote atmosphérique, ce qui souligne le fait que cette fixation est bien le résultat d'une symbiose vraie entre la plante et le micro-organisme.

Les besoins en vitamines varient considérablement d'une souche à l'autre ; ils peuvent être inexistantes ou au contraire porter sur une ou plusieurs vitamines : biotine, thiamine, acide pantothénique, riboflavine (FERRY et coll., 1959).

Les *Rhizobium* sont des micro-organismes aérobies, mais ils peuvent se contenter de faibles tensions en oxygène (0,01 atmosphère). Le pH optimal de croissance se situe entre 6,5 et 7,2 ; les *Rhizobium* préfèrent donc, généralement, la neutralité ; mais certaines souches sont très tolérantes à l'acidité : c'est chez *Rhizobium japonicum* qu'on rencontre le plus souvent des souches capables de supporter des pH bas (4,0 ou même 3,5). En culture, certains *Rhizobium* tendent à alcaliniser le milieu alors que d'autres l'acidifient ; dans ce dernier cas, il est nécessaire de tamponner le milieu avec du CaCO_3 .

Pour la caractérisation des souches, outre ce critère d'acidification ou d'alcalinisation du milieu, on fait souvent appel au critère vitesse de croissance. Mais ces deux caractères culturels ne peuvent, à eux seuls, servir de base à une classification taxonomique. On peut toutefois, en première approximation, admettre avec NORRIS (1962), l'existence de deux groupes de *Rhizobium* :

1° les *Rhizobium* à croissance rapide, représentés essentiellement par *Rh. leguminosarum*, *Rh. trifolii*, *Rh. phaseoli*, *Rh. meliloti*, qui acidifient assez souvent le milieu de culture ;

2° les *Rhizobium* à croissance lente, bien représentés par le groupe *Rh. japonicum* (y compris les *Rhizobium* du complexe *Vigna sinensis*) et, accessoirement, par *Rh. lupini*. Ces *Rhizobium*, très répandus en zone tropicale, n'acidifient pas, en général, le milieu de culture.

3° Structure antigénique

La structure antigénique des *Rhizobium* est très complexe, mais assez stable pour une souche donnée, d'où son intérêt pour l'identification des souches. Il est ainsi possible de suivre au champ les souches inoculées, dans le cadre d'études sur l'infectivité, l'effectivité et l'écologie des *Rhizobium* (JOHNSON et MEANS, 1963 ; DUDMAN, 1965 ; DATE et DECKER, 1965).

On a défini, à l'intérieur du genre *Rhizobium*, trois groupes sérologiques (MANIL, 1963) :

premier groupe : *Rh. leguminosarum*, *Rh. trifolii*, *Rh. phaseoli* ;

deuxième groupe : *Rh. meliloti* ;

troisième groupe : *Rh. lupini*, *Rh. japonicum*, y compris les *Rhizobium* du complexe *Vigna sinensis* (cow-pea),

et à l'intérieur de chacun de ces groupes, des sous-groupes dont le nombre est d'ailleurs variable suivant les auteurs : c'est ainsi que les *Rhizobium japonicum* comporteraient de 4 à 7 sous-groupes sérologiques (SKRDLETA, 1965).

Il semble qu'il n'y ait pas de rapport entre la structure antigénique et les caractères culturels, physiologiques et symbiotiques des *Rhizobium* (POCHON et DE BARJAC, 1958).

4° Spécificité vis-à-vis de la plante-hôte. Classification des « *Rhizobium* »

Une souche donnée de *Rhizobium* ne peut infecter et noduler indifféremment n'importe quel genre ou espèce de Légumineuse. Ainsi, un *Rhizobium* isolé de nodosités de Luzerne est incapable de provoquer la nodulation sur un *Vigna* et inversement.

Des essais systématiques d'inoculation avec des souches provenant de Légumineuses diverses ont permis de définir des groupes de *Rhizobium*, dits *groupes d'inoculation croisée* ; on a rangé à l'intérieur d'un même groupe toutes les souches susceptibles de noduler un ensemble donné d'espèces de Légumineuses, ces souches s'avérant incapables d'induire la nodulation en dehors de cet ensemble. FRED et coll. (1932) ont ainsi défini 16 groupes d'inoculation croisée, qui ont été ensuite portés à 22 (ALLEN et ALLEN, 1947). Six d'entre eux, qui sont parmi les mieux connus, ont été élevés arbitrairement au rang d'espèces, ce sont : *Rh. leguminosarum*, *Rh. trifolii*, *Rh. phaseoli*, *Rh. meliloti*, *Rh. lupini*, *Rh. japonicum* ; les espèces végétales réceptrices figurent au tableau LXXXIV, colonne 5. A côté de ces six groupes principaux, on en distingue d'autres, dont les limites sont plus confuses ou qui sont encore peu étudiés : citons, par exemple, le groupe des *Rhizobium* de *Lotus* et *Anthyllis* (H. L. JENSEN, 1963b), parfois confondu avec le groupe *cow-pea* (*Vigna*).

Depuis une vingtaine d'années, les bases de cette classification ont été sérieusement ébranlées par les observations suivantes qui intéressent à la fois la Bactérie et la plante :

a) **Il peut y avoir transgression de *Rhizobium* d'un groupe d'inoculation croisée à un autre.** — On a montré ainsi que des *Rhizobium* isolés de *Pisum* (groupe du *Rh. leguminosarum*) pouvaient infecter des plantes appartenant au genre *Trifolium*, qui, en principe, ne devraient noduler que sous l'action des *Rh. trifolii*. Des exemples de telles transgressions sont de plus en plus nombreux (JENSEN, 1958).

b) **Les caractères de spécificité des *Rhizobium* ne sont pas stables.** — Ils peuvent varier spontanément ou sous l'influence de traitements tels que ceux qui ont été évoqués page 634.

c) **La réceptivité de la plante-hôte n'est pas constante à l'intérieur d'une même espèce.** — L'on connaît, par exemple, des variétés de Trèfle rouge résistant parfaitement à la nodulation par *Rhizobium trifolii*. Il existe également des variétés de Soja ne nodulant pas, qui sont d'ailleurs souvent utilisées sur le plan expérimental.

La notion de groupe d'inoculation, telle que nous venons de la définir, est fondée sur le caractère d'*infectivité* ou pouvoir de nodulation du *Rhizobium*, vis-à-vis de la plante-hôte. Elle ne tient pas compte du caractère d'*efficience* ou aptitude à fixer l'azote (cf. *infra*, p. 615). Or, il résulte de travaux récents que la spécificité d'hôte peut, dans certains cas, être liée à l'efficience : BONNIER (1962) a montré qu'une souche efficiente vis-à-vis de *Medicago sativa* présente une spécificité d'hôte plus étroite que ne le fait une souche non efficiente vis-à-vis de la même plante-hôte. Pour classer les *Rhizobium*

TABLEAU LXXXIV. — CLASSIFICATION DES « RHIZOBIUM »

CLASSIFICATION DE GRAHAM		CLASSIFICATION USUELLE EN GROUPES D'INOCULATION CROISÉE		LÉGUMINEUSE-HÔTE
Genre	Espèce	Genre	Espèce	
<i>Rhizobium</i> (croissance généralement rapide)	<i>R. leguminosarum</i>	<i>Rhizobium</i>	<i>R. leguminosarum</i>	<i>Pisum</i> <i>Vicia</i> <i>Lathyrus</i> <i>Lens</i>
	<i>R. meliloti</i>		<i>R. trifolii</i> <i>R. phaseoli</i>	<i>Trifolium</i> <i>Phaseolus</i> ^(b)
<i>Phytomyxa</i> (croissance généralement lente)	<i>R. japonicum</i>	<i>Rhizobium</i>	<i>R. lupini</i>	<i>Medicago</i> <i>Medicago</i> <i>Trigonella</i>
			<i>R. japonicum</i> ^(a) (groupe Cow-pea)	<i>Lupinus</i> <i>Ornithopus</i> <i>Glycine</i> (Soja) <i>Vigna</i> (Cow-pea) <i>Crotalaria</i> <i>Pueraria</i> (Kudzu) <i>Arachis</i> <i>Lespedeza</i> <i>Phaseolus</i> ^(b)

(a) Au groupe *Cow-pea* correspondent des centaines de plantes-hôtes, dont quelques-unes seulement sont citées ici.
 (b) Le genre *Phaseolus* comporte des espèces nodulant avec des *Rhizobium* des groupes *R. phaseoli* et *R. japonicum*.

dans les différents groupes d'inoculation, on pourrait donc être tenté d'ajouter au critère *infectivité*, le critère *efficience*. Certains auteurs, dont MANIL (1963), estiment qu'on doit y renoncer car l'efficience est un caractère quantitativement très variable qui dépend de facteurs extérieurs au *Rhizobium* lui-même : facteurs édaphiques et facteurs génétiques propres à la Légumineuse (cf. p. 616). D'autres auteurs, tels que BROOKWELL et HELY (1966), pensent, au contraire, que malgré les difficultés rencontrées, l'utilisation du critère efficience pourrait servir de fondement à une classification présentant un intérêt pratique indiscutable.

A côté de la classification en groupes d'inoculation croisée — qui est encore largement utilisée — on a proposé diverses classifications fondées soit sur la structure antigénique, soit sur un ensemble très vaste de caractéristiques physiologiques et culturales. On a déjà évoqué la classification en trois groupes sérologiques (p. 601). Parmi les classifications du deuxième type, on citera celle que GRAHAM (1964) a fondée sur une centaine de tests et dont l'analyse statistique a été conduite à l'ordinateur. Cette dernière classification aboutit à la séparation des Bactéries des nodosités en deux groupes correspondant à deux genres :

— genre *Rhizobium*, avec les deux espèces *Rh. leguminosarum* et *Rh. meliloti*, auxquelles on rattache *Rhizobium radiobacter* (= *Agrobacterium radiobacter*) ;

— genre *Phytomyxa*, qui regroupe *Rhizobium lupini*⁽¹⁾, *Rhizobium japonicum* et les *Rhizobium* du complexe *Vigna sinensis*.

Le tableau LXXXIV donne les équivalences entre la classification de GRAHAM et la classification usuelle en groupes d'inoculation croisée.

En se fondant sur la teneur en guanine et cytosine (G+C %) de l'ADN, qui varie avec les souches bactériennes et peut refléter les affinités phylogénétiques entre elles, DE LEY et RASSEL (1965) sont arrivés à la même conclusion que GRAHAM, à savoir que les *Rhizobium* pourraient se classer en deux groupes :

1° Groupe des *Rhizobium* à faible teneur en guanine et cytosine (59,1 à 63,1 G+C %) et à la flagellation généralement péritriche, correspondant au groupe des *Rhizobium* à croissance rapide, c'est-à-dire au genre *Rhizobium* au sens de GRAHAM.

2° Groupe des *Rhizobium* à forte teneur en guanine et cytosine (62,8 à 65,5 G+C %) et à flagellation généralement subpolaire (fig. 157), correspondant au groupe des *Rhizobium* à croissance lente, c'est-à-dire au genre *Phytomyxa* de GRAHAM.

Il faut cependant admettre que cette distinction n'est pas d'une netteté absolue, car les teneurs (G+C %) des *Rhizobium* de chacun des deux groupes sont souvent très proches et chevauchent parfois.

(1) On a actuellement tendance à faire éclater le groupe *Rh. lupini* en deux sous-groupes, le premier s'intégrant au groupe *Rh. leguminosarum*, le deuxième au groupe *Phytomyxa* de Graham (ABDEL-GHAFFAR et JENSEN, 1966).

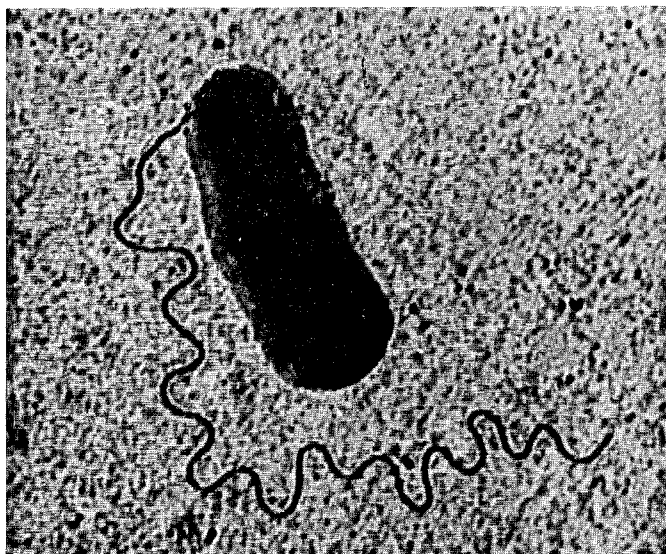


FIG. 157. — *Rhizobium japonicum* (isolé de *Glycine hispida*), à flagellation subpolaire caractéristique (DE LEY et RASSEL, 1965).

L'éclatement du genre *Rhizobium* en deux genres (*Rhizobium* sensu stricto et *Phytomyxa*) est loin d'être universellement admis. NORRIS (1967) en particulier estime beaucoup plus logique de grouper dans un seul genre, le genre *Rhizobium*, toutes les espèces symbiotiques des Légumineuses, qu'il s'agisse d'espèces à croissance rapide ou lente.

D. — L'INFECTION DES RACINES ET LA NODULATION

L'infection des racines et la nodulation sont régies par des facteurs extrinsèques, qui seront examinés ultérieurement, et par les facteurs intrinsèques qui intéressent le *Rhizobium* et la plante, que nous présentons ci-dessous.

Le *Rhizobium* doit être capable de pénétrer dans les tissus de l'hôte et y induire la nodulation : on dit qu'il doit être *infectif* ou *virulent*. Ce caractère d'infectivité (on dit aussi de spécificité) ne doit pas être confondu avec le caractère d'*effectivité* ou *efficience* qui sera défini ultérieurement. L'infectivité varie d'une souche à l'autre et peut présenter des degrés très variables.

La plante-hôte contrôle elle aussi l'infection et la nodulation. On a démontré l'existence de facteurs génétiques plus ou moins complexes induisant chez la Légumineuse une résistance à l'infection rhizobienne ou régissant le nombre ou la taille des nodules (NUTMAN, 1965).

TABLEAU LXXXV. — PRINCIPALES PHASES DE L'ÉTABLISSEMENT
DE LA SYMBIOSE EFFECTIVE ENTRE LA LÉGUMINEUSE ET LE « RHIZOBIUM »
(d'après VINCENT, 1967)

PHASES	EVÉNEMENTS CORRESPONDANTS
1. Préinfection de la racine	— Multiplication des <i>Rhizobium</i> spécifiques dans la rhizosphère — Déformation des poils absorbants
2. Infection et genèse du nodule	— Pénétration des <i>Rhizobium</i>, formation et progression du cordon d'infection — Multiplication des cellules tétraploïdes et diploïdes constituant le tissu nodulaire (différenciation du nodule)
3. Maturité nodulaire (Phase intracellulaire)	— Libération des <i>Rhizobium</i> au dehors du cordon d'infection, et formation (ou persistance) de la membrane enveloppante — Multiplication des <i>Rhizobium</i> libérés — Conversion sous forme bactéroïde — Etablissement de la symbiose fonctionnelle : réduction et assimilation de l'azote (maturité nodulaire <i>sensu stricto</i>)
4. Dégénérescence	— Libération des <i>Rhizobium</i> dans le sol

Chez de nombreuses Légumineuses, on a pu distinguer, dans l'infection et la formation des nodules, quatre phases principales : une phase de préinfection, une phase d'infection et de genèse du nodule, une phase de maturité nodulaire, une phase de dégénérescence (tableau LXXXV et fig. 164).

1° Phase de préinfection de la racine

Cette phase comprend elle-même deux étapes :

a) Multiplication des *Rhizobium* dans la rhizosphère de la Légumineuse.

— Les Légumineuses stimulent nettement les *Rhizobium* dans leur rhizosphère. Cette stimulation a bien été mise en évidence *in vitro* ainsi que dans le sol (cf. p. 553). Mais dans ce dernier cas, même lorsque la prolifération des *Rhizobium* est intense, ceux-ci représentent seulement une fraction (1 à 10 %) de la population rhizosphérique totale.

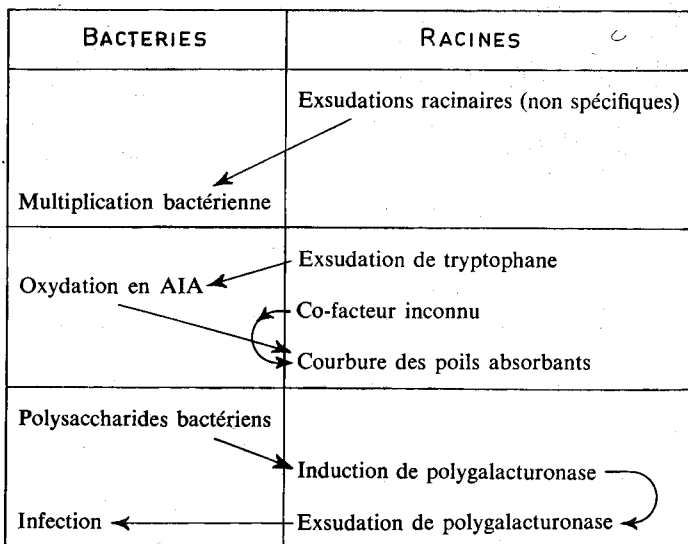
L'origine exacte de cette stimulation élective est obscure ; on sait cependant qu'elle est liée, dans une certaine mesure, aux exsudations racinaires, qui sont généralement diversifiées (acides aminés, enzymes, sucres, vitamines) et abondantes chez les Légumineuses. Il est évident que la densité élevée des *Rhizobium* dans la rhizosphère est

très favorable à l'infection des racines ; mais — si l'on considère ce seul point de vue de l'inoculum — il y aurait même excès de *Rhizobium* car quelques centaines de germes suffisent pour infecter convenablement un système racinaire. On a donc pensé qu'en plus de cette fonction, les *Rhizobium* de la rhizosphère interviendraient dans la solubilisation des phosphates, l'amélioration de la structure, ou simplement en tant que réserve d'inoculum lorsque le sol est soumis à des conditions défavorables (NUTMAN, 1965).

b) La préinfection proprement dite. — Chez les Légumineuses où l'infection se fait par les poils absorbants, ceux-ci ont subi, au préalable, une déformation que l'on attribue à l'action localisée d'auxines végétales, telles que l'acide 3-indol-acétique (AIA), qui proviendrait lui-même de l'oxydation par la microflore rhizosphérique — et par les *Rhizobium* en particulier — du tryptophane exsudé par les racines de la Légumineuse. On a, en outre, émis l'hypothèse suivant laquelle les *Rhizobium*, par l'intermédiaire des polysaccharides qu'ils synthétisent dans la rhizosphère, induiraient chez la plante-hôte la production de polygalacturonase (PG), enzyme qui pourrait faciliter la pénétration du *Rhizobium* en modifiant la plasticité de la paroi cellulaire des poils absorbants (FÄHRÆUS et LJUNGGREN, 1959 ; NUTMAN, 1963).

Le schéma de NUTMAN (1965) présenté ici (tableau LXXXVI) résume bien l'ensemble des processus qui précéderaient l'infection proprement dite.

TABLEAU LXXXVI. — CHAÎNE D'INTERACTIONS ENTRE LES « RHIZOBIUM » ET LES RACINES (NUTMAN, 1965)



N. B. — On notera que l'intervention de la polygalacturonase est loin d'être admise par tous les auteurs.

2° L'infection et la genèse du nodule

L'infection consiste dans la pénétration des *Rhizobium* en différents points du système racinaire. La distribution des points d'infection le long des racines suit des lois complexes, mais bien précises, d'où l'idée qu'elle serait contrôlée par l'hôte lui-même. Des résultats expérimentaux récents (VALERA et ALEXANDER, 1965 ; NUTMAN, 1965) étayaient l'hypothèse suivant laquelle la plante synthétiserait, à l'extrémité de ses organes aériens, un précurseur de la substance provoquant l'infection, qui migrerait vers les racines en voie de développement. Une substance *inhibitrice* de l'infection, qui serait

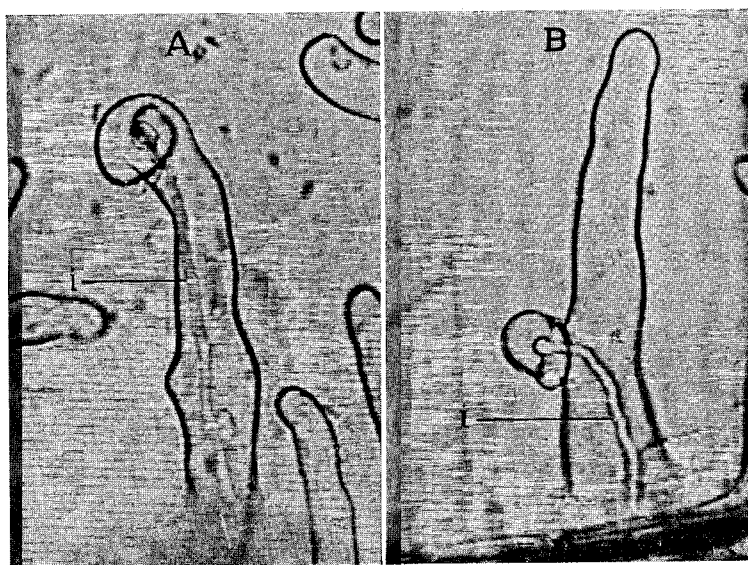


FIG. 158. — Cordon d'infection (i) pénétrant à l'extrémité ou sur le côté d'un poil absorbant (NUTMAN, 1965).

synthétisée dans les méristèmes racinaires, se déplacerait en sens inverse. Les infections primaires auraient lieu dans les zones où le précurseur serait transformé en substance active, c'est-à-dire là où l'activité méristématique ne fait que commencer.

Après avoir pénétré dans les poils absorbants, les *Rhizobium* sont entourés par un *cordon d'infection* ; c'est un cordon mucoïde, non cloisonné, entouré d'une gaine cellulosique synthétisée par l'hôte, qui ressemble à une hyphe (fig. 158 et 159). Le développement du nodule semble alors dépendre de la constitution génétique des cellules corticales où le cordon a pénétré. On sait que l'écorce des plantes diploïdes normales renferme, en plus des cellules diploïdes, certaines cellules tétraploïdes plus

grosses. Lorsque le cordon d'infection est sur le point d'atteindre une cellule tétraploïde préexistant dans le cortex, il y a stimulation de la division de cette cellule tétraploïde et des cellules diploïdes voisines. On pense que les cellules tétraploïdes, qui, normalement, ont perdu leur aptitude à se diviser, retrouvent cette aptitude sous l'effet de certaines substances proches des kinétines synthétisées dans les tissus de la plante-hôte (LIE, 1964). Le cordon d'infection se divise et pénètre dans les cellules tétraploïdes au fur et à mesure de leur apparition mais ne pénètre pas dans les cellules diploïdes. Le processus est identique pour les plantes tétraploïdes chez lesquelles le nodule commence à se développer dès que des cellules octoploïdes sont infectées.

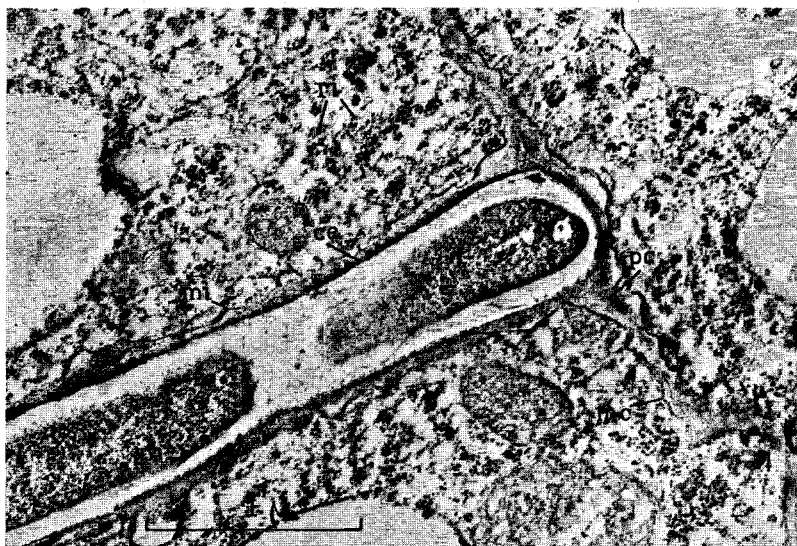


FIG. 159. — Cordon d'infection pénétrant dans une cellule d'un nodule de Soja âgé de 1 à 2 jours. *ce*, cellulose du cordon d'infection ; *mi*, membrane du cordon d'infection ; *mc*, membrane cytoplasmique de l'hôte ; *pc*, paroi cellulaire de l'hôte ; *ri*, ribosomes (GOODCHILD et BERGERSEN, 1966).

3° Phase de maturité nodulaire ou phase intracellulaire

(fig. 160 et 161)

Cette phase est marquée par l'invasion des cellules tétraploïdes de la zone centrale du méristème nodulaire par les Bactéries libérées par la rupture des vésicules qui apparaissent sur les cordons d'infection. Les *Rhizobium* prennent alors la forme bactéroïde que l'on a décrite antérieurement. Rappelons que les Bactéries ne sont pas libérées directement dans le cytoplasme mais sont enveloppées d'une membrane qui les entoure à l'état isolé ou par petits groupes : la membrane enveloppante.

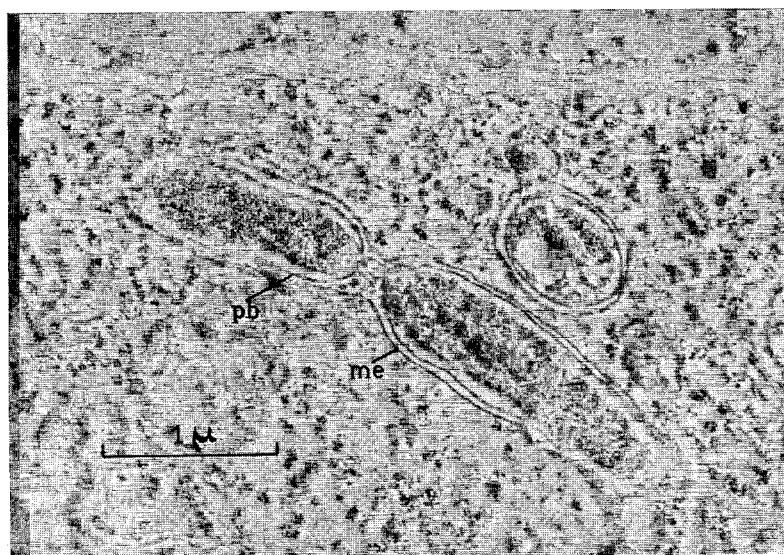


FIG. 160. — Développement de l'infection dans le nodule de Soja à un stade précoce (5^e à 6^e jour). Bactérie en cours de division dans le cytoplasme de la cellule-hôte ; *me*, membrane enveloppante ; *pb*, paroi bactérienne (GOODCHILD et BERGERSEN, 1966).

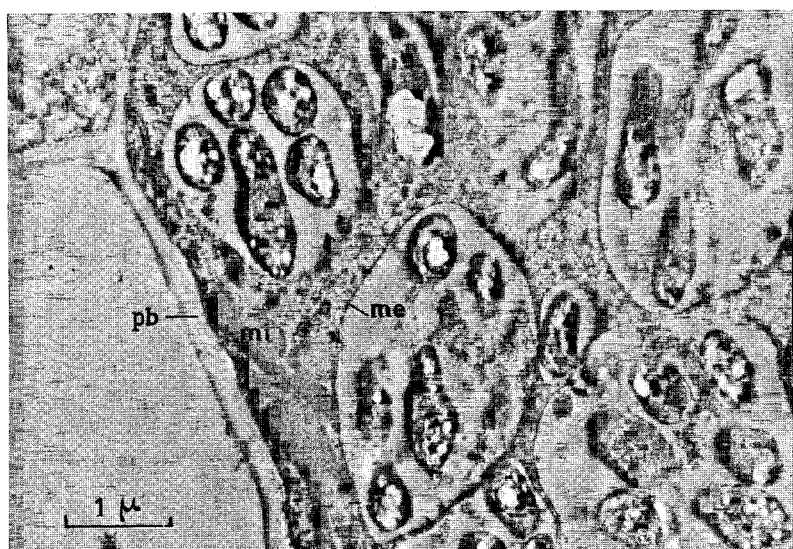


FIG. 161. — Cellule de nodule de Soja dans sa phase de maturité. La croissance bactérienne est terminée. Les bactéroïdes (*bi*) sont rassemblés par 4 à 6 dans des membranes enveloppantes (*me*). Les mitochondries (*mt*) sont concentrées à la périphérie dans la zone jouxtant une cellule vide ; (*pc*) paroi cellulaire de l'hôte (GOODCHILD et BERGERSEN, 1966).

C'est au cours de cette phase que l'hémoglobine se forme et colore en rouge la zone infectée et que l'azote moléculaire est fixé.

En section longitudinale, le nodule mûr comprend quatre zones de tissus différenciés (fig. 162) :

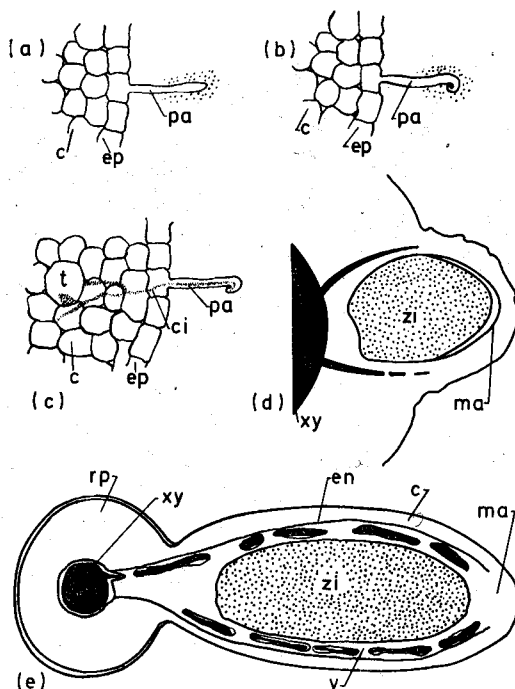
1° Une zone corticale externe ou cortex nodulaire, constituée de cellules parenchymateuses *non infectées* contrairement à ce que l'on observe dans des nodules de non-Légumineuses où l'endophyte envahit le cortex.

2° Une zone méristématique, zone de division cellulaire intense ne présentant aucun signe d'infection bactérienne. La position du méristème régit la forme générale du nodule, il est : 1. *allongé* (fig. 163) quand le méristème est en position apicale et quand il est persistant (*Trifolium*, *Medicago*) ; 2. *ramifié* quand la division du méristème est dichotomique ; 3. *sphérique* quand le méristème n'est pas persistant, le nodule se développant à partir d'un groupe de cellules différenciées très précocement (*Soja*, *Vigna*) (fig. 163) ; 4. il est *annulaire* lorsque le méristème se développe tout autour de la racine (*Lotononis*).

3° Le système vasculaire, placé en dessous du cortex et séparé de ce dernier par l'endoderme du nodule.

4° La zone centrale infectée, séparée du tissu vasculaire par plusieurs rangées de cellules parenchymateuses.

FIG. 162. — Genèse d'un nodule de Pois (STEWART, 1966). a, agrégation de *Rhizobium* autour des poils absorbants (*pa*) ; b, courbure d'un poil absorbant ; c, infection d'un poil absorbant et pénétration du cordon d'infection (*ci*) dans le tissu cortical jusqu'à une cellule tétraploïde (*t*) ; d, différenciation d'une zone méristématique apicale (*ma*) et d'une zone infectée (*zi*) ; e, coupe longitudinale le long d'un nodule montrant les quatre zones de tissus différenciés : zone corticale externe (*c*), zone méristématique (*ma*), système vasculaire (*v*), zone centrale infectée (*zi*). *rp*, racine primaire ; *xy*, xylème ; *en*, endoderme nodulaire ; *ep*, épiderme.



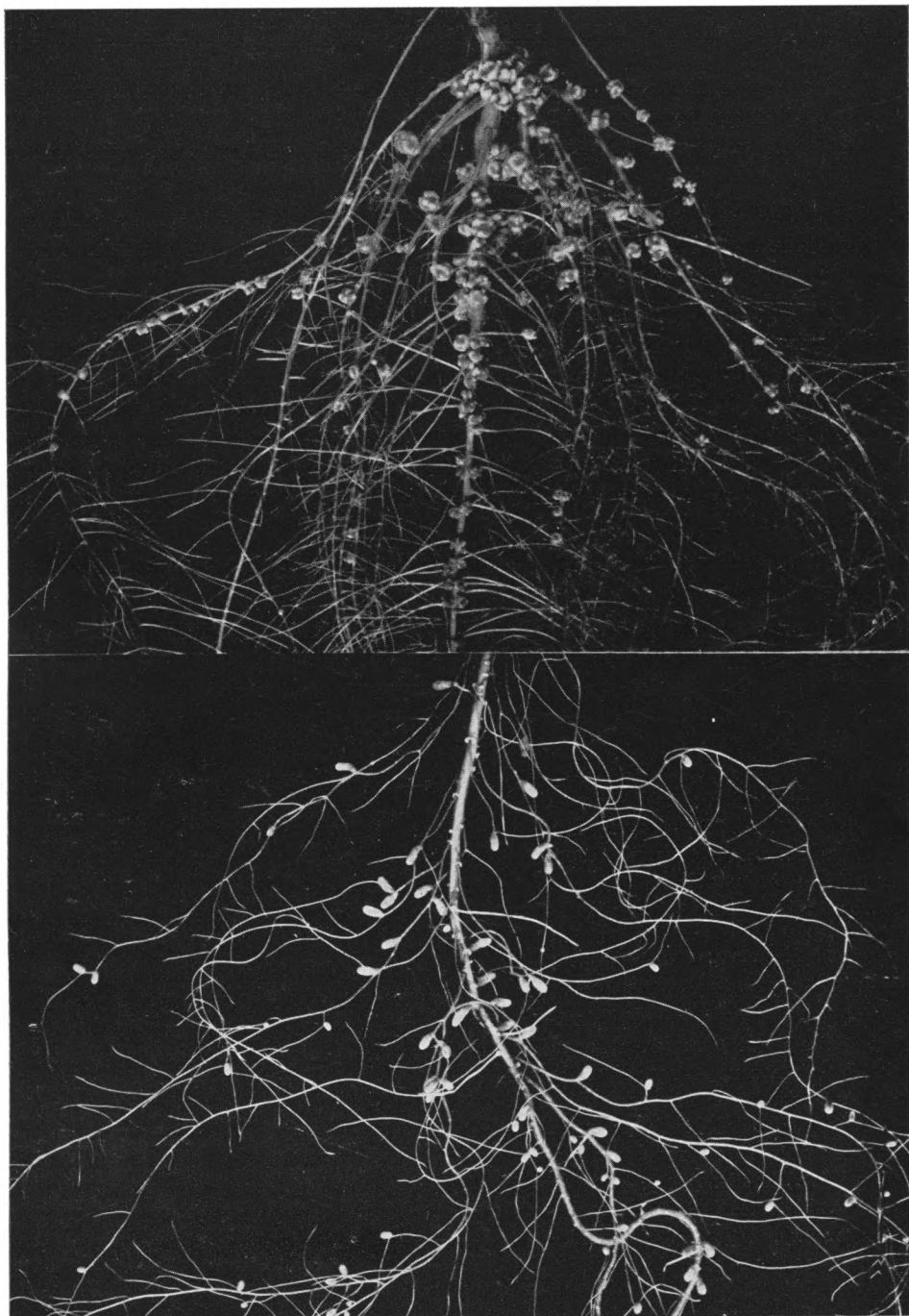


FIG. 163. — *Nodosités sur racines de Soja (en haut) et de Trèfle rouge (en bas)* (BOND, in STEWART, 1966 et FERGUSON et BOND, 1954).

4° Phase de dégénérescence

La dégénérescence du nodule, qui se manifeste par la substitution des pigments biliaires à l'hémoglobine et par la lyse des bactéroïdes, se propage du centre à la périphérie du nodule. Elle aboutit à la libération des Bactéries dans le sol. Chez certaines Légumineuses — généralement chez des espèces tropicales — une partie seulement des tissus bactériens dégénère à la fin de la saison de végétation et la croissance nodulaire peut reprendre.

5° Remarques importantes

a) Variations dans le déroulement des processus d'infection et de nodulation. — Les différentes étapes du développement du nodule que nous venons de décrire rapidement n'existent pas toujours. Une ou plusieurs d'entre elles peuvent, en effet, disparaître ou être réduites à leur plus simple expression sans nuire obligatoirement à l'efficacité de l'association fixatrice d'azote. Voici quelques exemples de variations autour du schéma général :

1° *Absence de cordon d'infection ;*

2° *Infection en dehors des poils absorbants*, par exemple, chez l'Arachide, où l'infection n'a pas lieu au niveau des poils absorbants mais au point d'émergence des racines latérales (ALLEN et ALLEN, 1958) ; chez *Neptunia oleracea*, Légumineuse aquatique sans poils absorbants, les *Rhizobium* pénètrent directement par les cellules épidermiques (SCHAEDE, 1940) ;

3° *Formation du nodule en dehors des tissus de l'écorce externe* : si, chez beaucoup de Légumineuses, le nodule apparaît dans l'écorce externe, il est des espèces chez lesquelles le nodule naît à partir des tissus de l'écorce interne et même du péricycle ou, au contraire, sous l'épiderme.

b) Phases critiques de la symbiose fixatrice. — Il y a échec de la symbiose fixatrice d'azote lorsqu'il y a incompatibilité entre l'hôte et la Bactérie. Cette incompatibilité peut se manifester dans l'une ou l'autre des phases considérées et, en particulier, dans la phase d'infection et la phase intracellulaire :

1° *Phase d'infection.* — C'est l'incompatibilité d'inoculation croisée appelée aussi *non-infectivité* ou *non-virulence*, caractère qui, on l'a vu, est encore utilisé comme base de classification des *Rhizobium*.

2° *Phase intracellulaire.* — C'est l'*inefficacité* ou *ineffectivité*, caractère qui peut varier quantitativement et sur lequel nous reviendrons ultérieurement.

c) Faux nodules. — Le système racinaire de l'Arachide présente parfois, au lieu des nodules typiques décrits ci-dessus, de faux nodules qui ne fixent pas l'azote ou

pourraient même exercer un effet dépressif sur la végétation. Contrairement aux nodules vrais, les faux nodules font, en général, partie intégrante de la racine dont il est impossible de les séparer sans blessure. Leur forme est irrégulière et ils sont uniformément blancs à l'intérieur car ils ne contiennent aucune trace d'hémoglobine (BONNIER, 1960). ALLEN et ALLEN (1940) attribuent la formation de ces faux nodules à des substances auxiniques produites par les micro-organismes de la rhizosphère. Le problème des faux nodules est loin d'être élucidé.

Sur plusieurs espèces, *Desmodium adscendens*, *Mimosa invisa*, *Pueraria javanica*, *Phaseolus angularis*, *Canavalia ensiformis*, on a noté l'existence d'excroissances racinaires qui diffèrent à la fois des galles à Nématodes et des faux nodules que l'on vient de décrire. Ces excroissances renferment des souches bactériennes indifférenciables des *Rhizobium* (BONNIER, 1960 ; VINCENT, 1965).

E. — FIXATION DE L'AZOTE

1° Siège et mécanisme de la fixation

Il est certain que le siège de la fixation de l'azote se trouve à l'intérieur des cellules infectées du nodule : en effet, la quantité d'azote fixé est directement proportionnelle au volume du tissu infecté.

Pendant longtemps on a ignoré la localisation exacte des sites de fixation dans le nodule ; on sait maintenant, depuis les travaux de BERGERSEN et TURNER (1967), que la fixation a lieu à l'intérieur ou à la surface des bactéroïdes.

On a vu, à propos de la fixation libre de l'azote (p. 159), que ce processus exige la présence simultanée : 1° d'une source de pouvoir réducteur ; 2° d'une source énergétique ; 3° d'un équipement enzymatique approprié. Ces conditions doivent être également réunies dans le cas de la fixation symbiotique. Les produits de photosynthèse fournissent l'énergie nécessaire ; ils servent de substrats pour les Bactéries et alimentent indirectement leur pouvoir réducteur ; ils constituent aussi la charpente carbonée nécessaire à la synthèse des substances aminées à partir de l'ammoniac produit au cours de la fixation. La réduction de l'azote moléculaire résulte non seulement de l'intervention d'une *hydrogénase* — dont l'existence a été démontrée — mais aussi d'un *système activant l'azote moléculaire* (nitrogénase).

Les nodules renferment en outre un pigment rouge de faible poids moléculaire (17 000) très voisin de l'hémoglobine et qui a été désigné par VIRTANEN et ses collaborateurs sous le nom de *leghémoglobine* par abréviation de « hémoglobine des Légumineuses ». Il existe une corrélation certaine entre la présence de cette substance et l'intensité de fixation de l'azote ; son apparition dans le nodule coïncide avec le démarrage de la fixation et sa dégradation correspond à l'arrêt de la fixation ; les nodules qui

fixent activement l'azote sont rouges car ils renferment de la leghémoglobine, alors que les nodules formés par les *Rhizobium* inefficients ne présentent jamais cette pigmentation. Mais le rôle exact et le mode d'action de la leghémoglobine sont encore mal élucidés. D'après BERGERSEN et TURNER (1967), la leghémoglobine ne joue pas un rôle direct dans la fixation puisque les bactéroïdes lavés peuvent fixer l'azote en l'absence de ce pigment. La leghémoglobine interviendrait seulement en tant que régulateur de la pénétration de l'oxygène vers le bactéroïde, la fixation n'ayant lieu que dans des conditions d'oxydo-réduction bien définies.

2° Transfert de l'azote fixé du nodule dans la plante-hôte

Une fois que l'azote moléculaire a été fixé au niveau du nodule, il migre rapidement dans le reste de la plante : il suffit de quelques heures pour que l'azote marqué fixé par les nodules soit décelé dans les tissus aériens de la Légumineuse.

1. Si l'on admet que le site de fixation est à l'intérieur de la cellule du bactéroïde, il est nécessaire de concevoir la libération des substances azotées synthétisées soit par autolyse du bactéroïde, soit par excrétion de ces substances par le bactéroïde. L'autolyse est peu probable car elle implique une activité protéolytique intense qui n'a jamais été mise en évidence dans le nodule ; elle suppose aussi une multiplication rapide des bactéroïdes, qui est impossible puisque sous cette forme les *Rhizobium* sont incapables de proliférer. Quant à l'excrétion, elle est possible mais vraisemblablement limitée.

2. Si l'on admet que le site de fixation est localisé à la surface de la cellule du bactéroïde, comme on l'envisage actuellement, rien ne s'oppose à un déplacement rapide de l'azote fixé dans les tissus non infectés de la plante-hôte.

L'azote fixé migrerait essentiellement sous forme d'acides aminés et d'amides, notamment d'asparagine (WIERINGA, 1958 ; PATE et WALLACE, 1964).

3° L'efficacité de la symbiose fixatrice

L'efficacité de la symbiose fixatrice est son aptitude plus ou moins grande à fixer l'azote. Elle dépend à la fois des facteurs extrinsèques que nous examinerons plus loin et de facteurs intrinsèques inhérents au *Rhizobium* et à la plante-hôte.

a) **Facteurs inhérents au *Rhizobium*.** — Une bonne souche de *Rhizobium* doit être à la fois infective (ou virulente) et efficace (ou effective). Même si la condition d'infectivité est satisfaite, c'est-à-dire même si la plante est pourvue de nodules, il n'y a pas obligatoirement fixation d'azote. Pour que ce processus puisse se manifester, il faut, en outre, que la souche bactérienne considérée soit capable de donner lieu à une fixation symbiotique d'azote : il faut qu'elle soit efficace. Comme l'infectivité, l'efficacité présente tous les degrés d'intensité possibles.

A l'intérieur d'un groupe d'inoculation croisée donné, c'est-à-dire à l'intérieur d'un groupe de *Rhizobium* capables d'infecter le même ensemble de Légumineuses, on peut observer des différences considérables dans l'efficacité de la symbiose.

A titre d'exemple, nous donnerons ici le compte rendu d'une étude faite par BURTON (1964) sur le groupe d'inoculation croisée du *Trifolium*. On sait que, sauf quelques exceptions (*T. ambiguum* et *Trifolium* des hautes montagnes de l'Afrique centrale), l'inoculation croisée est possible chez la plupart des espèces de *Trifolium*. Mais l'expérience montre que les symbioses *Rhizobium-Trifolium* présentent des niveaux d'efficacité très variables. Ainsi, sur les neuf souches testées de *Rhizobium trifolii*, trois seulement s'avèrent pleinement efficaces avec *T. nigrescens* et *T. pratense*, quatre avec *T. incarnatum* (fig. 164). Dans l'expérience en question, *T. alexandrinum*

Plante-hôte <i>Trifolium</i> sp.	Souches de <i>Rhizobium</i>								
	B ₁	B ₂	B ₃	B ₄	K ₂	K ₄	K ₁₀	P ₂₈	P ₂₉
<i>T. nigrescens</i>	○	●	●	●	○	○	○	●	●
<i>T. alexandrinum</i>	●	●	●	●	●	●	●	●	○
<i>T. incarnatum</i>	○	○	○	●	●	●	●	○	○
<i>T. pratense</i>	○	○	○	○	●	○	○	●	●

● effective ● moyennement effective ○ inefficace

FIG. 164. — Efficacité des symbioses établies entre quatre espèces de *Trifolium* et neuf souches de *Rhizobium* : souches B₁, B₂, B₃ et B₄ isolées de *T. alexandrinum* ; souches K₂, K₄ et K₁₀ isolées de *T. incarnatum* ; souches P₂₈ et P₂₉ isolées de *T. pratense* (BURTON, 1964).

semble capable de symbiose effective avec une large gamme de souches ; mais il est vraisemblable que cette conclusion ne serait pas vérifiée avec un assortiment différent. Une expérience du même type conduite avec des souches isolées sur divers *Lespedeza*, inoculées à des Légumineuses susceptibles d'inoculation croisée avec ces *Rhizobium* du groupe *Vigna sinensis* (cow-pea), montre que les symbioses efficaces sont plus rares qu'on ne le pense.

L'efficacité des souches de *Rhizobium*, comme leur infectivité, pourraient être modifiées par transformation, par transduction phagique ou par passages sur les plantes-hôtes (cf. p. 634). Les recherches dans ce domaine sont encore trop peu avancées pour que l'on puisse en espérer des applications pratiques dans l'immédiat.

b) Facteurs inhérents à la plante-hôte (NUTMAN, 1965). — La symbiose entre le *Rhizobium* et la Légumineuse est régie non seulement par certains caractères de la souche bactérienne, mais aussi par certains caractères génétiques propres à la plante-hôte correspondante. Il en résulte que, même en présence de souches de *Rhizobium*

TABLEAU LXXXVII. — AZOTE FIXÉ PAR TROIS VARIÉTÉS DE « TRIFOLIUM SUBTERRANEUM »
INOCULÉ AVEC DEUX SOUCHES DIFFÉRENTES DE « RHIZOBIUM »
(GIBSON, 1964)

VARIÉTÉ DE <i>Trifolium subterraneum</i>	SOUCHE TA 1	SOUCHE NA 30
Tallarock	3,13	2,72
Northam 1. E	1,92	0,15
Howard	2,90	0,23

N. B. — Les résultats, qui sont la moyenne de neuf répétitions, sont exprimés en mg/plante. L'expérience a été conduite à 10 °C et a duré 45 jours.

efficaces et stables, le taux d'azote fixé par une espèce légumineuse peut varier très largement en fonction de la variété considérée. Ainsi, la souche rhizobienne NA 30 étudiée par GIBSON (1964) induit une fixation d'azote satisfaisante avec la variété Tallarock de *Trifolium subterraneum* ; mais la symbiose avec cette souche est inefficace lorsqu'elle s'applique à d'autres variétés (tableau LXXXVII). On notera, à ce propos, que d'autres souches bactériennes, moins spécifiques, telles que la souche TA 1 peuvent induire une symbiose efficace avec les différentes variétés de Trèfle souterrain testées. Les variations de l'efficacité, dues à l'hôte, sont plus importantes chez les espèces à pollinisation croisée — telles que *T. pratense* ou *T. repens* — dont les caractéristiques génétiques sont relativement moins stables que chez les espèces cléistogames — telles que *T. subterraneum*. En ce qui concerne le Trèfle rouge (*Trifolium pratense*) qui a été plus particulièrement étudié, on sait :

1° que l'inefficacité partielle (réduction de l'efficacité globale) est contrôlée par de nombreux gènes ;

2° que l'inefficacité complète dépend de cinq gènes simples récessifs. Le premier de ces gènes est entièrement spécifique d'une souche bactérienne donnée, c'est-à-dire qu'il induit l'inefficacité en présence de cette souche mais non en présence des autres souches. Le second ne présente pas ce caractère spécifique ; il induit l'inefficacité avec toutes les souches bactériennes. Les autres facteurs héréditaires dépendent partiellement des souches bactériennes, car ils induisent l'inefficacité avec certaines souches mais pas avec d'autres.

L'inhibition de l'efficacité par les gènes que l'on vient de mentionner peut s'exercer de différentes façons : 1° elle peut se manifester aussitôt après la pénétration des *Rhizobium* dans les cellules de l'hôte : elle résulte alors de l'arrêt de la multiplication des bâtonnets rhizobiens infectieux et d'une division anormale des cellules de la plante, qui isole les Bactéries du reste du nodule ; 2° elle peut aussi résulter de la non-transformation des *Rhizobium* intracellulaires du stade bâtonnet au stade bactéroïde. Ces différents événements sont eux-mêmes la conséquence du blocage ou de l'absence de processus métaboliques encore inconnus.

Les variations de l'efficacité de la symbiose fixatrice due à l'hôte, observées chez le Trèfle rouge, ont été notées également avec différentes espèces de *Pisum*, *Medicago*, *Vicia*, *Arachis*, *Centrosema*. Il semble que, jusqu'à présent, les spécialistes de génétique végétale n'aient pas assez tenu compte de l'efficacité symbiotique lors de la sélection des différentes variétés de Légumineuses (GIBSON, 1964). Il y a là un domaine de recherche qu'il conviendrait d'explorer davantage.

4° Taux de fixation de l'azote « in situ »

Le taux de fixation par les Légumineuses dotées de nodosités efficaces varie considérablement d'une espèce à l'autre. En région tempérée, la Luzerne (*Medicago sativa*), les Trèfles et les Lupins apparaissent comme des fixateurs puissants, tandis que les Haricots (*Phaseolus*), Pois (*Pisum*) sont beaucoup moins actifs. En ce qui concerne les espèces tropicales, on remarquera que les taux peuvent dépasser parfois ceux qu'on obtient avec les Légumineuses tempérées : citons, entre autres, le cas de *Desmodium intortum*, qui fixe 370 kg N/ha/an (WHITNEY et coll., 1967) et celui de *Crotalaria usaramoensis*, qui fixe plus de 500 kg N/ha en six mois (HENZELL et NORRIS, 1962). Parmi les Légumineuses arborescentes tropicales, *Acacia mollissima* — planté pour son écorce à tanin — est une de celles qui contribuent le plus efficacement à l'enrichissement du sol en azote, puisque les plantations de cette espèce fixent environ 200 kg N/ha/an (ORCHARD et DARBY, 1956).

Bien entendu, la fixation varie largement en fonction des conditions écologiques : conditions climatiques, édaphiques et culturales.

Dans la pratique agricole, les Légumineuses sont utilisées de différentes façons : 1° pour l'installation de prairies pures ou en mélange avec des Graminées ; 2° en tant que culture principale introduite dans une rotation (exemple : première année, Arachide ; deuxième année : Mil) ; 3° en tant qu'*engrais vert* (c'est incontestablement cette dernière méthode qui est la plus efficace pour enrichir le sol en azote : elle n'implique en effet aucune exportation puisque la Légumineuse est entièrement enfouie. Elle présente l'inconvénient d'immobiliser le sol pendant une saison de végétation, si la Légumineuse utilisée comme engrais vert prend la place d'une culture normale) ; 4° en tant que culture dérobée — c'est-à-dire comme culture de fin de saison, après la culture principale ⁽¹⁾.

Quelle que soit la technique adoptée, l'introduction d'une Légumineuse dans une rotation culturale améliore toujours le bilan d'azote dans les sols.

(1) Partout où elles sont possibles, les cultures dérobées de Légumineuses sont à conseiller parce qu'elles présentent les avantages suivants : elles enrichissent le sol en azote en le maintenant couvert, donc protégé contre l'érosion pendant une période où il serait normalement dénudé ; elles ne privent pas l'agriculteur de la récolte principale : bien plus, elles lui fournissent un fourrage hors-saison.

5° Transfert de l'azote des Légumineuses aux Graminées

Les agronomes préconisent — à juste titre — aussi bien en région tempérée qu'en région tropicale, les associations de Légumineuses et de non-Légumineuses pour la constitution d'herbages. Ces associations induisent parfois une augmentation importante du rendement en azote de la non-Légumineuse : ainsi, en Nouvelle-Zélande, on a vu le rendement d'une Graminée passer de 56 kg N/ha, lorsqu'elle est cultivée à l'état pur, à 123-210 kg N/ha, lorsqu'elle est cultivée en mélange avec un Trèfle (MELVILLE et SEARS, cités par HENZELL et NORRIS, 1962). Mais, bien souvent, l'effet observé est beaucoup moins spectaculaire.

Il ne rentre pas dans le cadre de cet ouvrage de discuter en détail le problème très complexe des associations Légumineuses-Graminées, qui a fait l'objet de mises au point récentes (SALETTE, 1966) ; nous évoquerons ici simplement les hypothèses actuellement avancées pour expliquer l'effet favorable, lorsqu'il existe, de la Légumineuse sur le rendement en azote de la non-Légumineuse.

PREMIÈRE HYPOTHÈSE : Excrétion de l'azote par la Légumineuse et transfert à la non-Légumineuse associée

D'après STEWART (1966), c'est LIPMANN qui, en 1912, a été le premier à suggérer la possibilité d'exsudation de substances azotées par les racines des plantes. Ces premiers travaux ont été repris et confirmés ultérieurement par l'école d'Helsinki, qui a abouti à la conclusion que l'azote fixé par la Légumineuse peut être, pour une bonne partie (10 à 50 %), exsudé dans le sol (VIRTANEN et coll., 1937). Mais de telles exsudations sont parfois très discrètes ou inexistantes.

DEUXIÈME HYPOTHÈSE : Enrichissement du sol en azote par minéralisation des racines et nodosités des Légumineuses

Le transfert d'azote de la Légumineuse à la non-Légumineuse est maximal lorsque la décomposition des tissus nodulaires correspond à la phase d'absorption maximale d'azote par la non-Légumineuse. Ce transfert a été observé nettement entre le Pois et le Maïs (DINCHEV, 1965) et entre *Trifolium subterraneum* et *Dactylis glomerata* (SIMPSON, 1965) ; c'est à la décomposition rapide du système racinaire de *T. subterraneum* en été-automne que l'on peut attribuer l'accumulation caractéristique de l'azote nitrique dans les prairies à Trèfle en Australie du Sud.

On peut enfin admettre que dans le cas du mélange Légumineuse-non-Légumineuse, cette dernière bénéficie du fait qu'elle dispose de la presque totalité de l'azote minéral du sol puisque la Légumineuse ne consomme qu'une faible part de cet élément. Il est possible également qu'en absorbant l'azote minéral éventuellement en excès, la non-Légumineuse évite l'effet inhibiteur de l'azote combiné sur la fixation.

F. — FACTEURS EXTRINSÈQUES INFLUANT SUR LA FIXATION SYMBIOTIQUE

Avant d'aborder l'étude de l'écologie de la fixation symbiotique proprement dite, il est nécessaire de remarquer qu'il n'y a pas concordance obligatoire entre les conditions optimales de développement de la plante, de croissance et de survie du *Rhizobium*, de nodulation et d'efficacité de la symbiose. Cette disparité des exigences vis-à-vis d'un même facteur est nette dans le cas du calcium pour *Trifolium subterraneum* : alors que les exigences en calcium de *Rhizobium trifolii* sont modestes, celles de la plante-hôte sont beaucoup plus élevées de sorte qu'une carence en calcium du sol peut entraîner une chute de la production de substance azotée d'une prairie de *Trifolium subterraneum* de 240 kg à 20 kg N/ha/an seulement (LONERAGAN, 1960). Quant au Trèfle rouge (*T. pratense*), il se développe de façon satisfaisante à pH 4,0 sur du nitrate d'ammonium, mais il exige un pH de 5,0 pour fixer l'azote (VIRTANEN, 1928). Un autre exemple de disparité nous est fourni par l'étude du facteur température : on verra que la symbiose fixatrice est en général inhibée par des températures supérieures à 30 °C, alors que la plante-hôte se développe encore de façon satisfaisante à ces températures.

1° Facteurs influant sur la croissance et le métabolisme de la plante-hôte

Tout facteur agissant sur la croissance et le métabolisme de la Légumineuse influe indirectement sur le taux de fixation d'azote. Il n'est pas question d'examiner ici ces facteurs, dont l'étude relève de la physiologie végétale. Nous nous contenterons de donner deux exemples mettant en lumière l'importance de l'aspect phytophysiologique de la fixation d'azote chez les Légumineuses.

PREMIER EXEMPLE : *facteur-lumière*. — Par le biais de la photosynthèse qu'elle régit directement, la lumière intervient indirectement sur la fixation d'azote. En effet, dans la plante, le rapport C/N interne qui est fonction de la synthèse des hydrates de carbone règle, dans une certaine mesure, la fixation d'azote : une photosynthèse insuffisante entraîne une baisse du rapport C/N interne, d'où une inhibition de la fixation ; inversement, une photosynthèse excessive gêne la fixation. Il existerait pour chaque Légumineuse en symbiose avec une souche de *Rhizobium* donnée un rapport C/N optimal permettant la fixation d'azote maximale et éventuellement une exsudation de substances azotées (cf. *supra*, p. 619).

La composition quantitative et qualitative des radiations lumineuses joue un rôle considérable et, d'après LIE (1964), c'est par l'intermédiaire d'un système phytochrome que la lumière exercerait son action sur la formation de nodules.

DEUXIÈME EXEMPLE : *facteur-soufre*. — Le soufre joue un rôle essentiel dans le métabolisme de l'azote chez la plante et plus particulièrement dans la conversion de l'azote non protéique en protéines ; mais il n'intervient pas directement dans les processus de fixation de l'azote. Néanmoins, il exerce un effet indirect sur la fixation puisque toute déficience en soufre entraîne une baisse de la fixation d'azote (LONERAGAN, 1960). Les carences en soufre, bien que relativement peu fréquentes par suite de l'emploi généralisé des superphosphates, ont été signalées dans différentes parties du monde.

TROISIÈME EXEMPLE : *fertilisation phosphorique et potassique*. — Bien souvent, les Légumineuses répondent favorablement à des apports de phosphore et de potasse. Vraisemblablement l'amélioration de la nodulation et de la fixation consécutive à ces applications est plus imputable à l'amélioration de la croissance de la plante-hôte qu'à une stimulation de la nodulation ou de la fixation symbiotique elle-même.

2° Conditions d'existence et de survie des « Rhizobium » dans le sol

Les *Rhizobium* spécifiques vis-à-vis d'une espèce de Légumineuse donnée sont, dans le sol, exposés à l'action favorable, défavorable ou létale d'un certain nombre de facteurs que nous examinerons successivement. La connaissance exacte de ces facteurs présente une grande importance pratique et a fait l'objet de nombreux travaux, en Australie notamment.

a) *Facteurs chimiques et physiques*. — 1° pH. — La sensibilité des *Rhizobium* à l'acidité est variable. Elle est marquée pour la plupart des *Rhizobium* des Légumineuses tempérées : *Rhizobium trifolii* et, encore plus, *Rh. meliloti* sont très sensibles à l'acidité. Par contre, les *Rhizobium* du groupe *Vigna sinensis* (cow-pea) sont beaucoup plus tolérants : *Rh. japonicum* peut supporter un pH de 3,5.

Les engrais acidifiants (cf. p. 349) peuvent nuire à la conservation des *Rhizobium* dans le sol.

2° Calcium et magnésium. — Les différentes publications relatives à l'effet du calcium sont difficiles à exploiter car bon nombre d'expérimentateurs n'ont pas distingué les effets directs des ions calcium de l'effet neutralisant du carbonate de calcium, forme sous laquelle le calcium est habituellement apporté au sol ou aux milieux de culture. D'après NORRIS (1965), le carbonate de calcium ajouté habituellement aux milieux de culture a simplement pour rôle de tamponner ces milieux et de neutraliser les produits acides synthétisés par les *Rhizobium*. En fait, cet apport n'est indispensable que dans le cas des souches acidifiantes mais non dans celui des souches alcalinisantes, ces dernières appartenant pour la plupart aux groupes des *Rhizobium* du Lupin (*Rh. lupini*) et *Vigna sinensis* (cow-pea). On admet actuellement que les exigences en calcium des *Rhizobium* sont très faibles comparativement à celles de la plante-hôte.

Les besoins en magnésium sont nettement plus élevés et il est facile de mettre en évidence *in vitro* la déficience magnésienne, mais il est rare qu'elle se manifeste au champ (LONERAGAN, 1960).

3° **Cobalt.** — De nombreuses souches de *Rhizobium* exigent de la vitamine B₁₂ ; le cobalt est donc indispensable à leur développement.

4° **Substances toxiques pour les « Rhizobium ».** — Les *Rhizobium* se classent parmi les micro-organismes les plus sensibles à l'action létale des substances toxiques naturelles (exsudats de certaines graines, par exemple) ou introduites dans le sol ou sur les graines. Les produits anticryptogamiques utilisés pour protéger ces dernières s'avèrent souvent très nuisibles à la survie des *Rhizobium* (BRAKEL, 1963). Certains insecticides ou herbicides peuvent aussi être toxiques.

On a vu antérieurement (cf. p. 382) que de nombreuses souches de *Rhizobium* sont sensibles à la toxicité manganique.

En dehors de leur toxicité résultant de l'acidification du sol, les engrais peuvent détruire les *Rhizobium* par augmentation locale de la concentration osmotique ou action directe de certains ions métalliques toxiques.

5° **Température élevée.** — La sensibilité aux températures élevées varie considérablement suivant les espèces et souches de *Rhizobium*. On admet actuellement que les *Rhizobium meliloti* sont plus tolérants (40,5-42,5 °C) à ce point de vue que les *Rh. leguminosarum*, *Rh. trifolii* et *Rh. phaseoli* (36,5-42,5 °C).

La sensibilité des *Rhizobium* du groupe *Vigna sinensis* est très variable : les températures maximales oscilleraient entre 30 et 42,5 °C. BONNIER (1960) considère que les températures supérieures à 50 °C sont souvent létales. Certains composants du sol (acides humiques, argiles) exercent une action protectrice vis-à-vis des températures supérieures à 50 °C, qui ne sont pas rares dans les sols tropicaux découverts.

6° **Le facteur eau : dessiccation, lessivage.** — Comme nombre de micro-organismes telluriques, les *Rhizobium* sont sensibles à l'action létale de la dessiccation qui, on le sait (cf. p. 418), est, elle-même, fonction de la présence de substances protectrices : colloïdes humiques et argileux, composés organiques divers.

Les pluies violentes, fréquentes en zone tropicale, sont capables d'entraîner les *Rhizobium* en profondeur loin des graines ou de la rhizosphère. Cet entraînement est d'autant plus important que les semis ont lieu au début de la saison des pluies et que les sols sont plus sableux, donc plus filtrants.

b) **Facteurs biologiques.** — La plante contrôle dans une certaine mesure la densité rhizobienne dans le sol par l'intermédiaire de sa spermatosphère ou de sa rhizosphère. Nous ne reviendrons pas sur ce facteur biologique qui a été évoqué antérieurement.

Nous traiterons par contre ici des interactions entre les micro-organismes telluriques, dont nous examinerons successivement l'aspect inhibiteur et l'aspect stimulant vis-à-vis des *Rhizobium*.

1° Antagonisme. — Les trois formes d'antagonisme, compétition, antibiose, parasitisme (bactériophage), peuvent s'exercer à l'encontre des *Rhizobium* dans le sol ou la rhizosphère.

La compétition joue un rôle important : elle s'exerce notamment entre les *Rhizobium* efficaces spontanés ou introduits et les *Rhizobium* non efficaces autochtones ; dans certains cas, pour réussir l'inoculation avec des souches efficaces, il est nécessaire d'éliminer au préalable les souches autochtones non ou peu efficaces par une stérilisation partielle du sol, au Vapam par exemple (KHAN et coll., 1968).

Le sol et la rhizosphère renferment de très nombreux micro-organismes antagonistes synthétisant des antibiotiques — toxiques pour les *Rhizobium* — que nous désignerons ici sous le terme d'*antagonistes sensu stricto*, ou plus brièvement *antagonistes*. Nombre d'entre eux sont des Actinomycètes (VAN SCHREVEN, 1964). VISONA et TARDIEUX (1964) ont démontré que la micropopulation totale de la rhizosphère renferme jusqu'à 25 % d'antagonistes. Le rôle de ces antagonistes est mal connu ; il semble, en général, limité par les colloïdes du sol (cf. p. 466) et par le fait que les populations de *Rhizobium* sont denses. On signalera toutefois quelques échecs de nodulation dus à un phénomène d'antagonisme (HELY et coll., 1957). D'après VISONA et TARDIEUX (1964), les antagonistes pourraient éliminer les souches sensibles et modifier ainsi le pourcentage des souches efficaces.

On sait depuis longtemps que les *Rhizobium* sont plus ou moins sensibles à l'action lytique des bactériophages appelés *rhizobiophages* (ALLEN et ALLEN, 1958). Pour isoler ces virus, on inocule une culture de la souche de *Rhizobium* à étudier avec une suspension de sol, on la met à incuber et on la passe sur un filtre bactériologique. On recueille le filtrat et l'on teste la présence éventuelle d'un bactériophage dans ce filtrat en l'inoculant dans une culture fraîche de *Rhizobium*. Les différentes souches de *Rhizobium* présentent tous les degrés de sensibilité ou de résistance aux bactériophages. A la suite des travaux de DEMOLON et DUNEZ (1933), on a admis que le dépérissement progressif des cultures continues de Légumineuses, telles que le Trèfle ou la Luzerne (fatigue des luzernières), était dû à l'action lytique du rhizobiophage sur les *Rhizobium*, d'où diminution de l'activité fixatrice d'azote, et l'on a préconisé l'utilisation de souches de *Rhizobium* lysorésistantes pour l'inoculation des graines de Légumineuses. Mais actuellement ce rôle des rhizobiophages est loin d'être généralement reconnu. Pour certains chercheurs, le dépérissement des cultures continues de Légumineuses serait plutôt dû à l'accumulation dans le sol de substances toxiques sécrétées par la plante elle-même ou à la multiplication de micro-organismes phytopathogènes.

Les recherches de génétique moderne donnent un regain d'intérêt à l'étude des rhizobiophages en ce qui concerne notamment la caractérisation des *Rhizobium*.

2° **Stimulation.** — A côté des micro-organismes antagonistes ou sans effet, le sol renferme des micro-organismes qui peuvent stimuler la croissance des *Rhizobium* ; mais leur rôle effectif *in situ* est encore moins bien connu que celui des micro-organismes antagonistes.

3° Facteurs extrinsèques influant sur la nodulation

Les facteurs qui influent sur la nodulation — c'est-à-dire sur le processus de pénétration du *Rhizobium* dans les tissus racinaires de la Légumineuse et sur la genèse consécutive du nodule — différent ou n'interviennent pas dans les mêmes limites que les facteurs qui régissent la fixation d'azote elle-même. Nous dissocions donc l'étude écologique de ce processus de l'étude écologique de la fixation d'azote. Parmi les facteurs de l'environnement qui exercent une influence importante sur la nodulation, nous examinerons plus particulièrement le pH, la teneur du sol en calcium et azote combiné, la température, l'humidité.

1° **pH.** — On ne sait pas exactement dans quelle mesure l'acidité du sol peut agir directement sur la nodulation car il est très difficile de séparer cet effet de l'effet inhibiteur de l'acidité sur la croissance rhizobienne elle-même. Les valeurs limites observées pour la nodulation (4,7-4,8 pour *Trifolium*, 5,8-5,9 pour *Medicago*) correspondent d'ailleurs aux valeurs minimales déterminées pour la croissance.

2° **Calcium.** — Le rôle favorable du calcium sur la nodulation du Trèfle souterrain a été démontré sans équivoque par LONERAGAN et DOWLING (1958) : les besoins en calcium de la nodulation sont très nettement plus élevés que les besoins du *Rhizobium* lui-même ou les besoins de la Légumineuse. Mais il faut se garder de généraliser ces résultats : il découle en effet des travaux de NORRIS (1956, 1958) que les teneurs minimales ou optimales en calcium nécessaires à la nodulation, varient considérablement suivant les espèces légumineuses considérées. Dans des sols déficients en calcium, certaines Légumineuses tropicales peuvent noduler parfaitement en l'absence de chaulage : tel est le cas de *Stylosanthes gracilis* et *Indigofera spicata*. D'autres espèces semblent plus exigeantes, telles que *Centrosema pubescens* et *Phaseolus lathyroides*, car, même si elles nodulent en l'absence d'amendements calciques, elles répondent encore à des chaulages de 500 à 750 kg/ha. Des Légumineuses tempérées, comme *Trifolium fragiferum*, *Medicago sativa*, *Medicago tribuloïdes*, ou des Légumineuses tropicales, comme *Desmodium uncinatum*, présentent une nodulation optimale seulement après une application suffisante de chaux (VINCENT, 1965).

3° **Azote combiné.** — Si la présence de faibles quantités d'azote minéral est, en général, favorable, des doses plus élevées, notamment s'il s'agit d'azote nitrique, exercent une action inhibitrice très nette sur la nodulation (VAN SCHREVEN, 1959 ; VINCENT, 1965).

Pour expliquer l'inhibition de la nodulation par des doses relativement élevées de nitrates, on a émis deux types d'hypothèses :

a) *Hypothèse faisant intervenir une modification du C/N interne de la plante.*

— Si l'on admet que la nodulation est régie par le rapport C/N interne de la plante, on peut imaginer qu'une diminution de ce rapport à la suite de l'application d'azote induit un ralentissement de la nodulation. Cette thèse s'appuie en particulier sur les faits suivants :

1° la réduction de l'inhibition, observée à la suite de l'accroissement de la teneur de la plante en hydrates de carbone obtenu soit par activation de la photosynthèse, soit par adjonction d'hydrate de carbone exogène (STEWART, 1966) ;

2° l'inhibition partielle de la nodulation par applications foliaires d'urée à 0,5 ou 1 % (CARTWRIGHT et SNOW, 1962).

b) *Hypothèse d'une inhibition d'origine externe.* — Dans la rhizosphère, les nitrates pourraient, en partie, être réduits à l'état de nitrites ; ces derniers détruiraient catalytiquement l'AIA synthétisé par les *Rhizobium* à partir du tryptophane des exsudats. Si l'on admet que l'AIA joue un rôle important dans l'infection, on peut en conclure à la possibilité d'un effet inhibiteur des nitrates sur la nodulation. Les expériences de RAGGIO et ses collaborateurs (1965) semblent confirmer l'hypothèse d'une origine externe de l'inhibition : en effet, ces auteurs n'observent aucune inhibition de la nodulation si les nitrates sont injectés directement dans les racines ; celle-ci apparaît seulement si les nitrates sont appliqués dans le liquide nutritif baignant les racines.

L'origine de la stimulation de la nodulation par les très faibles doses d'azote combiné est difficile à élucider. Elles pourraient agir en retardant la nodulation au début du développement de la plante et en offrant ainsi ultérieurement à l'infection un système racinaire plus étendu.

On notera enfin que l'influence des doses d'azote combiné varie en fonction de la saison, de la souche rhizobienne et de la Légumineuse considérée.

4° **Température.** — La température optimale de nodulation est souvent inférieure à la température optimale de croissance de la plante-hôte. Ainsi, d'après PATE (1961), la nodulation chez *Medicago tribuloïdes* est maximale à 8-12 °C alors que l'optimum thermique de la plante est bien supérieur. On a souvent constaté un ralentissement de la nodulation par des températures relativement élevées mais encore très favorables à la croissance de la Légumineuse.

5° **Humidité.** — Il est probable qu'un déficit hydrique ralentit la nodulation. D'un autre côté, on admet généralement que l'excès d'humidité pourrait gêner la nodulation, bien que, dans le cas du Trèfle, VINCENT (1965) n'ait pas constaté ce fait.

4° Facteurs extrinsèques influant sur la fixation d'azote dans le nodule

1° **pH.** — Lorsque la plante est nodulée, la fixation d'azote elle-même est peu sensible au pH, car la plante renferme un système efficace de régulation interne du pH (STEWART, 1966 ; MUNNS, 1968). Ainsi, s'il est correctement approvisionné en calcium et en phosphore, le Trèfle souterrain fixe aussi bien l'azote dans un sol à pH 5,0 que dans un sol dont le pH a été élevé à 7,0-7,5 par chaulage. Certaines Légumineuses (*Medicago tribuloïdes*, par exemple), par contre, semblent un peu plus sensibles à l'acidité. Mais il faut se montrer très prudent dans l'interprétation des résultats, car, bien souvent, l'acidité intervient indirectement par exemple en induisant une toxicité aluminique ou manganique ou une carence en éléments indispensables tels que le molybdène.

2° **Calcium et magnésium.** — Il est très difficile de déceler le rôle direct exact de ces éléments sur la fixation d'azote dans le nodule, car ils agissent non seulement sur la symbiose elle-même, mais aussi sur la plante ; leur effet est, en outre, compliqué par l'existence d'interactions complexes avec d'autres éléments. On indiquera seulement ici que, pour LONERAGAN (1959), la fixation d'azote chez *T. subterraneum* exigerait un niveau de calcium plus élevé que la plante-hôte elle-même.

3° **Oligoéléments.** — Les exigences en molybdène du système fixateur sont plus élevées que les exigences de la plante seule : en effet, la Légumineuse nodulée cultivée sans azote combiné a des besoins en molybdène plus importants que la Légumineuse disposant d'azote combiné. Le rôle du molybdène dans la fixation a été confirmé par les recherches récentes sur les complexes enzymatiques des micro-organismes fixateurs libres. Dans les sols acides, le molybdène se trouve sous une forme difficilement assimilable, d'où la nécessité de faire des applications de molybdène sur les cultures de Légumineuses. Le molybdène est apporté au sol ou aux feuilles par aspersion.

Le cobalt est indispensable à la croissance des plantes (qu'il s'agisse de non-Légumineuses ou de Légumineuses), au développement des *Rhizobium* (cf. p. 622) et aussi à la fixation symbiotique ; mais les besoins de la fixation sont bien plus importants que les besoins de la plante elle-même. L'intensité de la fixation est fonction de la teneur des nodules en vitamine B₁₂ — vitamine cobaltifère — et en hémoglobine, pigment dont la synthèse exige du cobalt.

Les déficiences en bore perturbent le fonctionnement du nodule ; mais il est parfois difficile de distinguer cet effet de celui de la carence sur la plante elle-même.

4° **Soufre, phosphore, potassium.** — Rappelons que le soufre n'intervient pas dans la fixation elle-même, mais dans la synthèse des protéines à partir de l'azote fixé ou de l'azote combiné absorbé par les racines. Les exigences des Légumineuses en phosphore sont relativement élevées et, si elles ne sont pas satisfaites, la fixation d'azote, comme la nodulation, est fortement déprimée. Mais il s'agit d'un effet indirect qui est lié à une

croissance défectueuse de la plante-hôte. Le *potassium* semble sans effet direct sur la fixation symbiotique.

5° Azote combiné. — L'azote combiné réduit la fixation symbiotique d'azote mais ne l'inhibe jamais complètement. Ainsi, chez le Trèfle souterrain, l'azote fixé symbiotiquement représente 75 % de l'azote de la plante, dans un sol ne recevant aucune fumure azotée ; ce pourcentage tombe lors d'une application de 110 kg N/ha, mais il est encore de 16 % dans ces conditions (PURCHASE, 1958). On pense actuellement que l'azote fixé symbiotiquement est en général insuffisant pour satisfaire les besoins *potentiels* totaux de la plante.

La réduction de la fixation symbiotique de la plante sous l'influence d'apports exogènes d'azote dépend de l'activité photosynthétique, de la demande en azote de la plante, de la nature et de l'âge de la Légumineuse, de la nature de la souche rhizobienne.

6° Température. — La fixation symbiotique d'azote est en général spécifiquement inhibée par les températures extrêmes, qui ne gênent nullement la croissance de la plante elle-même. Il en résulte que les plantes qui reçoivent des doses élevées d'azote combiné sont moins affectées par des températures élevées ou basses au niveau des racines que les plantes dont le ravitaillement en azote dépend uniquement de la fixation symbiotique. Aussi, *Trifolium* se développe aussi bien à 20 qu'à 35 °C en présence d'azote combiné ; mais, en son absence, la plante dépérit à 30 °C. Il ne s'agit pas d'une inhibition de la nodulation car le nombre des nodules augmente de 20 à 30 °C ; il ne s'agit pas non plus d'une inhibition de la croissance du végétal, mais probablement d'une inhibition du fonctionnement du complexe enzymatique impliqué dans la fixation car à 30 °C les nodules présentent une pigmentation anormale. DART et MERCER (1965) notent en effet une réduction de la teneur des nodules en hémoglobine lorsque la température dépasse 36 °C ; il en est de même quand elle tombe au-dessous de 21 °C.

La température optimale de fixation de l'azote se situe souvent autour de 24 °C (PATE, 1962 ; BARRIOS et coll., 1963).

En ce qui concerne les basses températures, la fixation d'azote ne semble pas toujours spécifiquement inhibée et il y a vraisemblablement intervention de facteurs limitants autres que ceux qui régissent la fixation (PATE, 1961).

La sensibilité de la fixation symbiotique à la température n'est pas seulement fonction de la plante-hôte, mais aussi de la souche rhizobienne (PATE, 1962).

7° Composition de l'atmosphère du sol. — L'oxygène est indispensable à la fixation symbiotique de l'azote par les nodosités. Ainsi, d'une étude effectuée par BERGERSEN (1962) sur la fixation de ^{15}N , il résulte que l'optimum de fixation correspond à une pression partielle en oxygène (pO_2) de l'ordre de 40 à 50 % (fig. 165). On sait toutefois que la pression partielle d'oxygène est beaucoup moins élevée dans l'atmosphère libre et *a fortiori* dans le sol ; cette expérience de BERGERSEN n'en présente pas moins l'intérêt de souligner les exigences en oxygène de la fixation symbiotique par le nodule.

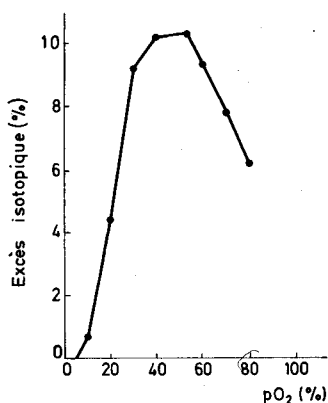


FIG. 165. — Influence de la tension partielle en oxygène (pO_2) sur la fixation d'azote par des nodules de Soja excisés (BERGERSEN, 1962).

Quant aux réactions enzymatiques de fixation de l'azote, il est admis qu'elles doivent se développer en milieu réducteur, ce qui est possible car l'enveloppe qui entoure les bactéroïdes joue vraisemblablement le rôle d'une barrière en deçà de laquelle la pression partielle d'oxygène est très faible.

On a vu, à propos de l'étude des sols hydromorphes que la saturation en eau du sol réduisait considérablement la nodulation et la fixation en limitant la diffusion d'oxygène dans le sol. D'après LOVE-DAY (1963) la nodulation est fortement restreinte lorsque ce taux de diffusion tombe au-dessous de $8 \times 10^{-8} \text{ g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{min}^{-1}$.

Quant à l'azote, sa pression partielle dans l'atmosphère du sol est toujours suffisante : ce gaz ne joue jamais le rôle de facteur limitant.

8° Humidité. — La sécheresse agit sur la fixation en même temps qu'elle agit sur la plante elle-même.

La submersion ou l'engorgement interviennent en ralentissant la diffusion de l'oxygène dans le sol et peuvent ainsi inhiber la fixation.

G. — INOCULATION (OU BACTÉRIISATION) DES LÉGUMINEUSES

La fixation d'azote par les Légumineuses présente un intérêt agronomique considérable, puisqu'elle apparaît comme un moyen très économique de maintenir ou d'accroître le stock d'azote du sol et de produire à bon compte des protéines alimentaires, dont certaines régions — notamment les régions tropicales — ont un besoin croissant. Cet effet favorable ne peut être obtenu qu'en présence d'une souche de *Rhizobium* hautement efficiente. Si une telle souche n'existe pas dans le sol considéré, il est nécessaire de l'introduire. Pour y parvenir, la méthode adoptée très généralement consiste à enrober les graines de Légumineuses avant semis avec une culture de la ou des souches appropriées. Cette opération qui est de pratique courante est connue sous le nom impropre d'inoculation ; on devrait plutôt utiliser le terme de bactérisation. Nous emploierons ici indifféremment l'un ou l'autre de ces termes. Quant à la culture de *Rhizobium*, qui sert à bactériser des Légumineuses, elle est parfois désignée sous le nom de *nitragine*.

1° Sélection des souches rhizobiennes appropriées

L'inoculation des graines d'une Légumineuse dans des conditions écologiques données nécessite la sélection préalable d'une ou plusieurs souches (dans le cas d'inoculation multiple) présentant les qualités nécessaires à l'établissement d'une symbiose à pouvoir fixateur d'azote élevé. Ces qualités essentielles sont les suivantes :

a) **Infectivité**, c'est-à-dire aptitude particulière à pénétrer dans les tissus racinaires et à induire la nodulation. Pour éviter l'échec dû à la non-réceptivité de la variété de la plante-hôte considérée vis-à-vis de la souche de *Rhizobium* utilisée (fig. 164), on a préconisé l'utilisation de *souches à large spectre* (wide spectrum strains), qui peuvent infecter un grand nombre de variétés d'une même espèce de Légumineuses ou même un ensemble d'espèces (par exemple, l'ensemble des Légumineuses du groupe *Vigna sinensis*). Il faut cependant souligner que les souches à large spectre peuvent s'avérer moins efficaces que les souches plus spécifiques et il est, en fait, plus rentable de choisir les souches à haute efficacité.

b) **Aptitude à la compétition** (dominance), c'est-à-dire aptitude à supplanter des souches autochtones.

c) **Efficacité** (effectivité), c'est-à-dire aptitude à fixer au maximum l'azote. Cette dernière qualité, qui est primordiale, doit aller de pair avec une réceptivité parfaite de la variété de Légumineuse considérée vis-à-vis de la souche de *Rhizobium* (cf. p. 616).

d) **Stabilité** des caractères génétiques.

e) **Résistance à l'action létale de divers facteurs** physiques (température élevée, dessiccation), chimiques (pH, substances toxiques, telles que produits fongicides) ou biologiques (phages).

f) **Adaptation au niveau de fertilité des sols** ; il est toujours souhaitable de tenir compte, lors de la sélection des souches, du niveau de fertilité des sols où elles seront utilisées. En effet, il a été démontré que certaines souches sont plus aptes que d'autres à la fixation en présence de fortes doses d'azote combiné ou dans des sols carencés en potassium.

g) **Persistance des souches dans le sol**. — L'expérience montre que les réponses à l'inoculation, qui sont très marquées lors du premier établissement d'une Légumineuse, tendent à s'atténuer au cours des cultures successives en raison de la multiplication spontanée dans le sol de souches natives à faible pouvoir fixateur qui concurrencent les souches introduites. Il apparaît nécessaire, dans ces conditions, de chercher à sélectionner des souches non seulement compétitives et efficaces, mais aussi caractérisées par leur aptitude à persister dans le sol (BERGERSEN, 1967).

En ce qui concerne l'efficacité des souches, on a proposé un certain nombre de critères simples, tels que :

- couleur rouge foncé du nodule ⁽¹⁾ indiquant la présence de leghémoglobine ;
- présence d'acides aminés spécifiques dans la sève des plantes nodulées avec des souches efficaces ;
- localisation des nodules dans la partie supérieure du système racinaire (résultant de ce que les premières infections inhibent les infections ultérieures).

En fait, ces critères ne sont pas toujours valables et de nombreuses expériences *in vitro*, puis en *vases de végétation* et *in situ* sont nécessaires pour tester l'ensemble des caractéristiques des souches.

Sur le plan pratique, il s'avère très difficile de bactériser les semences avec des souches parfaitement adaptées à la multitude des conditions écologiques particulières qui se présentent et l'on est en fait dans l'obligation de limiter le nombre des souches utilisées à quelques-unes, choisies, bien entendu, parmi celles qui ont fait preuve de hautes qualités d'infectivité et d'efficacité.

2° Inoculation des graines

a) **Préparation des inoculums.** — Les souches de *Rhizobium* sélectionnées en fonction des critères que nous venons d'énumérer sont cultivées dans des fermenteurs ; les cultures ainsi obtenues servent à imprégner un support en poudre (tel que tourbe broyée, terre d'infusoires ou simplement sol) stérilisé ou non par autoclavage ou par irradiation (rayonnement gamma). La lyophilisation a été utilisée en Australie pendant plusieurs années ; mais elle a été abandonnée car les résultats sont inférieurs à ceux que l'on obtient avec les cultures sur tourbe. La lyophilisation est pourtant une méthode prometteuse et l'on cherche actuellement à la perfectionner.

b) **Application des inoculums ; enrobage.** — L'inoculum est appliqué sur les graines le moins de temps possible avant le semis. On préconise souvent l'enrobage (*pelleting*) des semences avec un mélange comportant un *adhésif* (gomme arabique ou méthylcellulose) et des *substances diverses* (phosphate naturel broyé, chaux, tourbe, farine de Luzerne, sang, bentonite). L'enrobage permet une meilleure conservation des *Rhizobium* et les protège contre les effets toxiques d'engrais, de pesticides ou d'exsudats de graines ; en outre, il élimine l'attaque de pourritures.

On vient de voir que l'inoculum est appliqué sur la graine avant le semis. BONNIER et LEBRUN (1963) proposent de faire cette application à des graines prégermées ; dès que les radicules sont apparentes, la germination est stoppée par séchage dans un courant d'air.

(1) Il faut noter à ce propos que certains nodules efficaces peuvent être noirs : nodules de *Dolichos* (CLOONAN, 1963) et de *Centrosema pubescens* (DÖBEREINER, 1964).

c) **Inoculums à plusieurs souches** (bactérisation multiple). — On peut distinguer deux types d'inoculums :

1° les inoculums renfermant des souches appartenant à plus d'un groupe d'inoculation croisée (par exemple : *Rhizobium* de Luzerne et de Trèfle) ;

2° les inoculums renfermant des souches appartenant aux mêmes groupes d'inoculation croisée.

Le premier type d'inoculum a été conçu dans le but de simplifier la commercialisation et la diffusion des cultures rhizobiennes auprès des agriculteurs. Sa préparation ne soulève pas de problème particulier : il suffit de cultiver séparément les souches et de les mélanger seulement au moment de l'incorporation au support pour éviter la suprématie de l'une d'entre elles.

Le deuxième type d'inoculum a pour but d'éliminer ou tout au moins de réduire :

1° le risque de mutations défavorables chez l'une des souches ; 2° le risque d'une réduction de l'efficacité avec une plante-hôte d'une variété particulière ou en fonction de certaines conditions écologiques hostiles ; 3° le risque d'une sensibilité aux rhizobiophages. Comme dans le cas précédent, il est nécessaire de cultiver les souches séparément. La valeur de ces techniques est encore très discutée : il est à craindre en particulier, qu'à un moment ou à un autre, une des souches ne l'emporte sur les autres. L'utilisation d'une souche unique à large spectre (voir ci-dessus) semble théoriquement appelée à un avenir plus brillant.

d) **Survie des *Rhizobium* dans les inoculums et sur les graines.** — La densité des *Rhizobium* dans les inoculums diminue :

1° au cours du stockage, notamment si celui-ci est effectué à une température de l'ordre de 25 °C (une réduction au 1/10 de la densité apparaît en vingt semaines à 5 °C, mais peut apparaître à 25 °C au bout de huit semaines seulement).

2° aussitôt après l'application sur la graine (réduction de 10 à 100 fois) pour différentes raisons et, en particulier, à cause de la toxicité de certaines graines, à cause de l'application de pesticides, etc. On a vu que l'enrobage peut protéger efficacement les *Rhizobium* à ce stade.

e) **Densité des *Rhizobium* vivants mis à la disposition des graines.** — Lorsqu'on l'enfouit, chaque graine doit disposer, au minimum, d'une centaine de cellules bactériennes vivantes ; mais le chiffre de mille est préférable (inoculum standard). Si les conditions écologiques qui suivent le semis sont défavorables, il est nécessaire d'accroître encore le nombre de *Rhizobium* par graine : BONNIER et LEBRUN (1965) préconisent alors des densités de l'ordre de 30 000 Bactéries vivantes par graine enfouie ; CLOONAN et VINCENT (1967) constatent que, dans un environnement peu favorable, un inoculum massif (100 000 *Rhizobium* par graine) donne 90 % de plants nodulés alors qu'un inoculum standard (1 000 *Rhizobium* par graine) donne seulement 30 % de plants

nodulés. Cette influence favorable de l'inoculation massive a été également soulignée par OBATON (1967) ; il ne faut cependant pas croire qu'une inoculation massive peut remplacer certaines précautions élémentaires, telles que l'amendement ou la fertilisation correcte du sol.

f) **Préinoculation.** — Par ce terme, on désigne la pratique qui consiste à inoculer les semences bien avant leur emploi. Mais la conservation des *Rhizobium* sur les graines est souvent défectueuse. Pour l'améliorer, on a préconisé — parfois avec succès — l'enrobage avec différentes substances.

3° Résultats de l'inoculation

a) **Augmentation des rendements en matière sèche et en azote.** — Dans le cas de l'introduction d'une Légumineuse nouvelle dans un sol chimiquement bien équilibré mais non excessivement pourvu en azote minéral, l'inoculation bien conduite donne des résultats spectaculaires, le rendement pouvant être doublé ou triplé. C'est ainsi qu'on a obtenu dans des sols « neufs » de la cuvette congolaise des augmentations de rendement considérables pour le Soja et l'Arachide (tableau LXXXVIII).

TABLEAU LXXXVIII. — EFFET DE LA BACTÉRIISATION DU SOJA ET DE L'ARACHIDE DANS UN SOL FERRALLITIQUE DU CONGO (BONNIER, 1960)

RAPPORT DES RENDEMENTS PARCELLES INOCULÉES PARCELLES TÉMOINS	SOJA	ARACHIDE
Matière sèche	1,8	1,8
Azote	2,3	2,5

Mais la réponse à l'inoculation est inexistante ou très faible si le sol renferme déjà des *Rhizobium* autochtones efficaces appartenant au groupe d'inoculation de la Légumineuse considérée.

Bien entendu, il existe toutes sortes d'intermédiaires entre ces deux extrêmes. Les augmentations de rendement fréquemment observées oscillent entre 10 et 30 % (voir, par exemple, VINCENT, 1965).

b) **Autres effets de l'inoculation.** — En dehors de l'accroissement des rendements en azote, l'inoculation pourrait avoir des effets secondaires bénéfiques en ce qui concerne l'absorption de certains éléments dont P, K, Ca. La dissolution des phosphates

tricalciques par les *Rhizobium* de la rhizosphère pourrait contribuer à améliorer la nutrition phosphorée de la Légumineuse (NUTMAN, 1963). En outre, l'association *Rhizobium*-Légumineuse favoriserait parfois la synthèse d'alcaloïdes dans la plante : c'est à l'accroissement de la teneur en substances de ce type que l'on a attribué la réduction de l'infection par les *Fusarium*.

c) **Origine des échecs de l'inoculation.** — Parmi les causes les plus fréquentes de la non-infection de la Légumineuse par les souches de *Rhizobium* appliquées sur les graines ou de la non-efficacité de la symbiose entre la Légumineuse et la souche introduite, on citera les suivantes :

— *inoculum de mauvaise qualité* : densité insuffisante des micro-organismes vivants, souches non compétitives, souches non infectives ni effectives ;

— *contact de l'inoculum avec engrais ou pesticides toxiques* pour les *Rhizobium* ;

— *milieu-sol défavorable* : pH insuffisant, humidité insuffisante, présence d'antagonistes ou de bactériophages, température anormale, excès d'azote combiné, carence en certains éléments (P, Ca, Mo, Co, B), propriétés physiques défectueuses (par exemple compacité trop forte) ;

— *plante-hôte non réceptrice*.

4° Conclusion : avenir de l'inoculation des Légumineuses

L'inoculation présente seulement de l'intérêt pour les Légumineuses dont « l'alimentation en azote se fait essentiellement par l'intermédiaire de la symbiose, comme la Luzerne et le Soja ; par contre, pour d'autres espèces, comme le Haricot, l'azote minéral du sol semble être la source préférentielle » (OBATON, 1967).

Lorsqu'il s'agit de Légumineuses du premier type, l'inoculation est indispensable dans les sols ne renfermant pas de souches rhizobiennes efficaces :

1° Sols anciennement cultivés, mais n'ayant jamais porté la Légumineuse considérée ; par exemple : sols de la côte Ouest des Etats-Unis où l'on introduit le Trèfle souterrain.

2° Sols *neufs* que l'on vient de récupérer ; par exemple : sols de polders hollandais, sols ferrallitiques de colline à Madagascar (DÉNARIÉ, 1968).

3° Sols naturellement impropres à la culture de la Légumineuse, mais que l'on a amendés et qui, de ce fait, peuvent convenir à cette culture ; par exemple : sols acides chaulés en vue de l'établissement de luzernières (OBATON et BLACHÈRE, 1965).

4° Sols aptes à la culture légumineuse envisagée, mais où les *Rhizobium* ne survivent pas pour différentes raisons ; par exemple : sols de régions tropicales semi-arides, sols hydromorphes.

Ces sols se rencontrent dans de nombreux pays et la pratique de l'inoculation des Légumineuses y connaît un grand essor : Australie, Asie, Afrique centrale et de l'Est (Kenya, Rhodésie), Afrique du Sud, Amérique du Sud, Europe de l'Est.

L'inoculation peut être envisagée aussi dans le cas où l'on cherche à substituer à des souches indigènes peu efficaces des souches nouvelles à efficacité accrue. Mais il s'agit là d'un problème plus difficile que seuls des progrès importants dans nos connaissances sur les *Rhizobium* permettront de résoudre à coup sûr. Quelles sont donc les possibilités d'amélioration que laissent entrevoir les résultats des recherches actuelles ?

a) **Amélioration des souches rhizobiennes.** — On dispose actuellement de méthodes perfectionnées qui devraient permettre de modifier les caractéristiques génétiques des souches sauvages. La technique de transformation, appliquée aux *Rhizobium* par R. BALASSA (R. BALASSA, 1960 ; G. BALASSA, 1963) et utilisée ultérieurement par d'autres chercheurs (ZELAZNA, 1964 ; KLECZKOWSKA, 1965), permet de transférer le matériel génétique (ADN) d'une souche donatrice à une souche réceptrice, ce transfert intéressant en particulier les caractères d'infectivité et d'efficacité des *Rhizobium*. La technique de transduction par des rhizobiophages pourrait également rendre de grands services dans ce domaine.

D'autres méthodes sont également utilisées pour améliorer les souches : irradiation aux rayons X (JORDAN, 1952 ; EMTSEV, 1962), action d'antibiotiques (HAMATOVÁ, 1960), passage répété sur une même plante-hôte (HAMATOVÁ, 1965).

b) **Développement de nos connaissances sur les souches tropicales du groupe *Vigna sinensis* (cow-pea).** — Jusqu'à présent, la plupart des recherches sur la symbiose *Rhizobium*-Légumineuses ont porté sur des espèces des régions tempérées. Il est vraisemblable que l'étude systématique des espèces des régions tropicales, entreprise en particulier par BONNIER (1960) au Congo et par les chercheurs de l'école australienne et de l'école brésilienne, apportera des éléments nouveaux susceptibles d'applications pratiques.

c) **Amélioration de la réceptivité des Légumineuses.** — Les progrès de la génétique devraient permettre la découverte de variétés de Légumineuses mieux adaptées à la symbiose rhizobienne que celles qu'on utilise actuellement.

d) **Amélioration de la technique d'inoculation.**

e) **Amélioration de la fertilisation des Légumineuses.** — Des analyses fines devraient permettre de déterminer avec précision les besoins des sols non seulement en éléments majeurs, tels que P, mais aussi en oligoéléments tels que Mo, B, Zn, Cu, Co qui jouent un rôle de premier plan dans la fixation symbiotique.

CHAPITRE V

SYMBIOSES FIXATRICES EN DEHORS DES LÉGUMINEUSES

INTRODUCTION

On a remarqué, parfois depuis bien longtemps, que les racines de certains arbres ou arbustes, mais aussi de quelques plantes herbacées, portaient habituellement des nodosités et la découverte de la symbiose entre Légumineuses et *Rhizobium* devait naturellement attirer l'attention sur cette particularité, d'autant plus que les espèces nodulées étaient souvent des plantes pionniers colonisant les sols les plus ingrats : sables, éboulis, pierriers, moraines. Mais toutes les nodosités n'ont pas nécessairement la même signification et les seuls cas où l'on ait pu démontrer, jusqu'ici, la réalité d'une fixation de l'N atmosphérique se rencontrent chez quelques familles de Dicotylédones Angiospermes, chez les Cycadales et chez certains Conifères. En outre, des symbioses fixatrices se rencontrent au niveau des feuilles de quelques Rubiacées tropicales et, naturellement, chez les Lichens lorsque vivent associés Champignon et Algue bleue.

Nous commencerons cette étude par le cas des nodosités radiculaires des Angiospermes, celui-ci étant de loin le mieux connu.

I. — LES NODOSITÉS RADICULAIRES DES ANGIOSPERMES

Des nodosités ont été signalées chez les Zygophyllacées, certaines Rubiacées, Crucifères, Scrofulariacées et Graminées, mais leur signification et leur rôle sont inconnus ou controversés. Jusqu'ici, la fixation symbiotique d'azote au niveau de nodosités n'a été démontrée que chez un nombre limité d'espèces toutes ligneuses, phanérophytes ou chaméphytes, appartenant aux sept familles suivantes : Casuarinacées, Myricacées, Bétulacées, Eléagnacées, Rhamnacées, Coriariacées, Rosacées Dryadées et peut-être aussi Ericacées. Mais sur cet ensemble, la réalité de la fixation n'est prouvée que chez 110 espèces appartenant à 13 genres différents (tableau LXXXIX) (BOND, 1967).

TABLEAU LXXXIX. — RÉPARTITION SYSTÉMATIQUE DES ANGIOSPERMES NON LÉGUMINEUSES
PRODUISANT DES NODOSITÉS
(d'après BECKING, 1966 et BOND, 1967)

FAMILLE	GENRE	NOMBRE D'ESPÈCES DANS LE GENRE	NOMBRE D'ESPÈCES NODULÉES
Casuarinacées	<i>Casuarina</i>	45	14
Myricacées	<i>Myrica</i> , <i>Gale</i> et <i>Comptonia</i>	35	11
Bétulacées	<i>Alnus</i>	35	25
Eléagnacées	<i>Eleagnus</i>	45	9
	<i>Hippophaë</i>	1	1
	<i>Shepherdia</i>	3	2
Rhamnacées	<i>Ceanothus</i>	55	30
	<i>Discaria</i>	10	1
Coriariacées	<i>Coriaria</i>	15	12
Rosacées	<i>Dryas</i>	4	1
	<i>Purshia</i>	2	2
	<i>Cercocarpus</i>	20	1
Ericacées ^(a)	<i>Arctostaphylos</i>	40	1

(a) Aptitudes fixatrices non démontrées.

La plupart de ces plantes appartiennent à la flore des régions tempérées, mais certaines peuvent pénétrer dans les zones subtropicale ou subarctique.

De plus, les Coriariacées préfèrent des climats assez chauds : Nouvelle-Zélande, Amérique centrale et méridionale, Japon, région méditerranéenne.

Les *Casuarina*, pour leur part, sont des arbres tropicaux originaires, en général, des régions côtières du sud-est asiatique, de l'Indonésie, des îles du Pacifique. Ils ont été introduits jusque dans la région méditerranéenne mais sont surtout utilisés pour le reboisement dans les zones tropicales et subtropicales, en climat humide ou même sec, mais alors dans les régions littorales. Leur aptitude à croître dans les sols sableux profonds et pauvres, sous réserve de la persistance en saison sèche d'une nappe phréatique assez proche (2-3 m) leur confère un grand intérêt (DOMMERGUES, 1966). Mais si les *Casuarina* sont tous nodulés dans leur aire naturelle et probablement en Afrique tropicale, il n'en va pas de même dans toutes les régions (Italie, Afrique du Nord).

Les différentes espèces du genre *Alnus* sont originaires de l'hémisphère Nord tempéré et des Andes et vivent de préférence dans les stations humides. Elles peuvent cependant être plantées avec succès même sur des sols très drainés et pauvres (remblais, refus des carrières). Toutes les espèces étudiées sont nodulées, même sur des sols qui jusque-là n'ont jamais porté d'Aulnes.

Les *Myrica* (incl. le genre *Gale*) sont des arbrisseaux ou de petits arbres des deux hémisphères, à feuillage aromatique et aux exigences variées : *Myrica gale* colonise les tourbières de la zone atlantique en Europe, mais se retrouve en Sibérie et en Amérique du Nord. *M. pensylvanica* préfère par contre les sols sableux et secs.

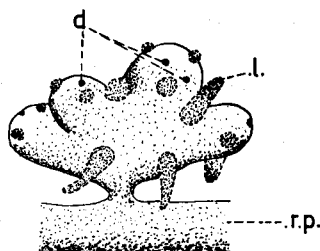
Parmi les Eléagnacées, *Hippophaë rhamnoides* est un arbrisseau épineux vivant sur les dunes littorales et les graviers des torrents alpestres en Europe et en Asie tempérée et les *Shepherdia* croissent surtout sur la côte Ouest des Etats-Unis jusqu'à des latitudes relativement élevées.

Une seule espèce de *Dryas*, *D. drummondii*, nord-américaine, est douée de propriétés fixatrices alors que *D. octopetala* n'a jamais montré de nodosités et pourtant l'une et l'autre offrent le caractère d'espèces pionniers colonisant les sols squelettiques.

1° Morphologie des nodosités

Dans tous les cas, les nodosités sont permanentes et évoluent de la même façon. Ce sont d'abord des nodules simples, présentant les caractères d'une racine courte, de quelques millimètres de long sur 1 à 1,5 mm de large. Puis elles se ramifient au sommet, sur un mode dichotomique, pour former un ensemble digité devenant ensuite de plus en plus volumineux (fig. 166). Ainsi se constituent peu à peu des masses atteignant parfois les dimensions d'une balle de tennis (*Alnus*, *Ceanothus*, *Casuarina*) formées d'une multitude de nodules courts, serrés les uns contre les autres. L'ensemble, verruqueux, brunit en se couvrant de suber.

FIG. 166. — Jeune nodosité d'*Alnus glutinosa*. Sur une racine principale (rp) s'est formée une ramification latérale dont l'extrémité s'est divisée en quatre lobes. Au sommet de ceux-ci, de petites dépressions (d) indiquent l'emplacement des méristèmes. Noter encore les lenticelles volumineuses (l) (BOND, 1963).



Chez *Myrica* et *Casuarina*, chaque nodule peut se prolonger, au sommet, en une racine longue ordinaire mais à géotropisme variable et souvent négatif, de telle sorte qu'elle s'allonge en direction de la surface du sol. Ceci pourrait être dû à l'activité d'un système auxine-oxydase chez ces plantes de sorte que la teneur en auxine des nodosités reste suboptimale (SILVER et coll., 1966) (fig. 167).

L'infection prend place probablement au niveau des poils absorbants, bien que ce point de vue ne soit pas admis par tous les auteurs (BOND, 1963). Les poils se déforment et parfois se courbent comme dans le cas des Légumineuses, sous l'influence, semble-t-il, d'auxines produites par l'endophyte.

L'initiation du nodule débute peut-être par la prolifération du parenchyme cortical de la racine, puis se poursuit de la même manière que la formation d'une radicelle

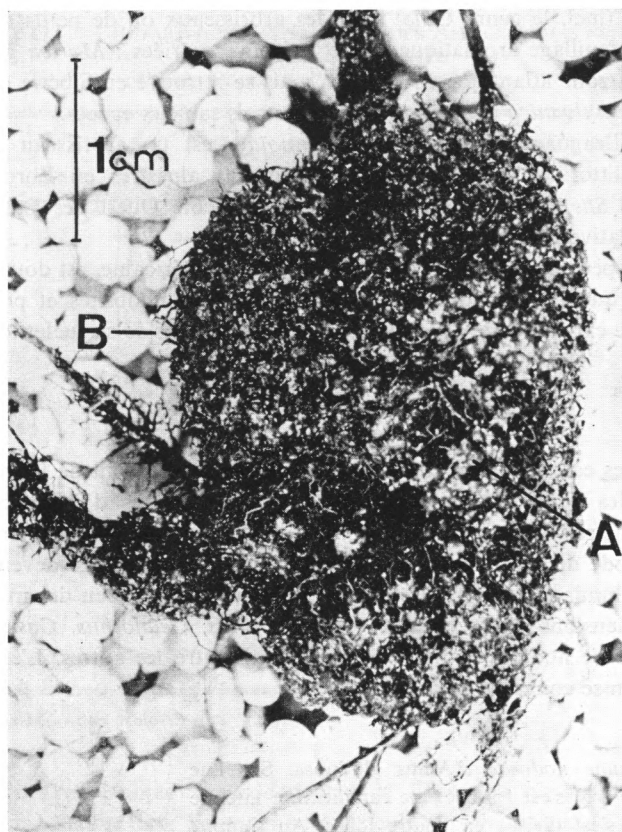


FIG. 167. — Vue d'ensemble d'une nodosité de *Casuarina* sp. photographiée sur fond de sable. Il s'agit d'une nodosité pérenne typique sur laquelle on peut distinguer le sommet des jeunes ramifications (A) et de fines racelles noires à géotropisme variable (B) (photo KIFFER).

normale, à partir du péricycle. Il est d'ailleurs possible que l'endophyte n'induisse pas lui-même la formation de la nodosité et que celle-ci apparaisse seulement en un point où se serait développée régulièrement une racelle.

La nodosité comprend finalement un cylindre central entouré d'un endoderme, d'un parenchyme cortical épais et d'un épiderme. Son sommet est occupé par un méristème au-dessous duquel on peut observer des cellules hypertrophiées renfermant l'endophyte (BECKING, 1966). Mais la nodosité diffère d'une racine normale par l'absence de coiffe et l'apparition très précoce d'un péricycle. Quand elle s'allonge, l'endophyte se trouve localisé à un cylindre de parenchyme cortical situé à une certaine distance de

l'endoderme et du périoderme. Cependant, chez *Coriaria*, l'infection est unilatérale de sorte que le cylindre central de la nodosité se trouve en position excentrique.

2° Pigments des nodosités

Chez la plupart des Angiospermes non Légumineuses, les nodosités présentent souvent, à la section, une coloration rouge ou rose, comme dans le cas des nodosités actives des Légumineuses et l'on a pensé naturellement à la présence de ferroporphyrines. Mais la mise en évidence et l'extraction de l'hémoglobine est ici beaucoup plus difficile que dans le cas des Légumineuses car existent, en même temps, des pigments anthocyaniques et d'autres composés phénoliques ainsi que les systèmes oxydasiques correspondants. L'oxydation des phénols pourrait ainsi masquer l'hémoglobine ou entraîner sa propre oxydation couplée. De plus, elle semble fortement liée aux constituants cellulaires. On a cependant isolé de l'hémine à partir des nodules de diverses espèces et DAVENPORT (1960) par microspectroscopie directe des nodosités de *Casuarina* a acquis la conviction qu'elles contenaient de l'hémoglobine.

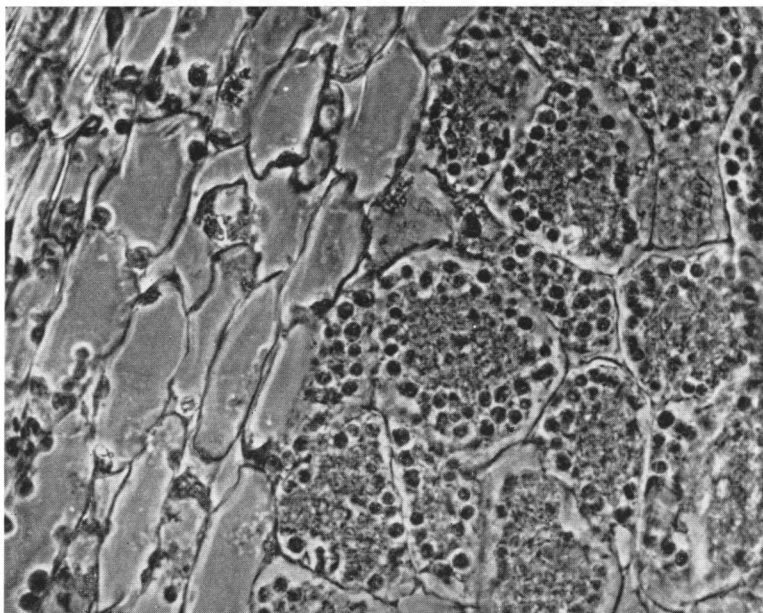


FIG. 168. — Cellules du parenchyme cortical d'*Alnus glutinosa* occupées, au centre, par des hyphes pelotonnées et, à la périphérie, par des vésicules sphériques. Noter l'hypertrophie des cellules infectées en les comparant à des cellules saines (à gauche de l'image). Si le rapport nucléo-plasmique est constant, on peut supposer que les cellules infectées sont tétraploïdes (photo et commentaires de J. H. BECKING)

3° Morphologie « in vivo » de l'endophyte

Dans la plupart des cas, les parenchymes infectés renferment des *filaments* grêles, de moins d'un micron de diamètre, en général, ramifiés et cloisonnés transversalement, dont l'ultrastructure est semblable à celle des Actinomycètes et qui sont entourés, sans doute, par le cytoplasme de la cellule-hôte. Vers la périphérie de celle-ci se forment des vésicules, dont la structure est complexe, probablement par dilatation du sommet des hyphes (BECKING et coll., 1964) (fig. 168).

Les cellules-hôtes renfermant ces éléments paraissent demeurer vivantes et il est probable qu'elles finissent par digérer l'endophyte avant de mourir elles-mêmes.

D'autres cellules sont entièrement remplies d'éléments ressemblant à des Bactéries (*éléments bactériiformes*) étroitement serrés les uns contre les autres et dont l'origine est discutée mais qui appartiennent très probablement au même endophyte que les structures précédentes (fig. 169). On ne voit alors plus aucun élément de la cellule-hôte,



FIG. 169. — Cellule d'une nodosité d'*Alnus glutinosa* contenant des éléments bactériiformes (W, paroi de la cellule végétale) ($\times 16\,000$) (photo due à l'obligeance de J. H. BECKING).

hormis ses parois ; elle paraît morte et finit par éclater en libérant son contenu. Aussi a-t-on suggéré que les éléments bactériiformes pourraient être des organes de conservation et de propagation du parasite (SCHAEDE, 1962).

Les nodosités inactives ne contiennent pas de vésicules, mais chez sept espèces de *Coriaria*, ALLEN et ses collaborateurs (1966) n'en ont jamais trouvé non plus, de sorte que ces structures ne sont pas liées à la phase de fixation active de l'N.

Enfin, chez les Rosacées et chez *Arctostaphylos*, l'endophyte n'a pas été décrit.

4° Position systématique des endophytes

Elle ne peut être connue avec certitude que dans la mesure où ceux-ci sont obtenus en culture pure ; or, l'isolement des endophytes se heurte à de grandes difficultés : la désinfection superficielle des nodosités est très délicate si l'on veut éviter d'endommager l'organisme symbiote et celui-ci paraît se développer très mal en dehors de son hôte et alors uniquement en présence de substances de croissance telles que l'extrait de Levure ou celui de nodosités.

Pourtant de nombreux travaux, depuis celui de PEKLO en 1910, décrivent l'isolement d'endophytes à partir des nodules de diverses espèces ; mais le plus souvent les cultures obtenues ne sont pas infectieuses, ou leur pouvoir n'a pas été contrôlé ou bien, s'il s'est manifesté au début, l'expérience n'a plus été réussie ensuite.

Aussi les opinions les plus diverses se sont-elles exprimées quant à la nature de ces endophytes : pour certains, ce sont des *Rhizobium* — et cette opinion a encore été tout récemment formulée — ; pour d'autres, c'étaient des Myxomycètes Plasmodiophorales ou des Champignons filamenteux, mais la plupart des spécialistes pensent qu'il s'agit d'Actinomycètes et plus précisément de *Streptomyces*. On a cru aussi que plusieurs micro-organismes interviendraient dans la symbiose, ce qui expliquerait l'échec des inoculations par des cultures pures et le succès constant de l'infection par des bouillies de nodosités.

Les expériences de WOLLUM et ses collaborateurs (1966) confirment le rôle des Actinomycètes, puisqu'ils ont isolé l'endophyte de *Ceanothus*, ont provoqué la formation de nodosités à l'aide d'une culture pure et ont même pu suivre les stades successifs de l'infection.

5° Inoculations

On les réalise facilement, sauf chez *Coriaria* et *Dryas*, en culture hydroponique si l'on ajoute à celle-ci un broyat de nodule, apportant par conséquent des facteurs de croissance indispensables et qui font défaut dans les solutions synthétiques.

Dans la nature, il arrive que l'on n'ait pas à s'en préoccuper et de nombreux sols sont infectieux même s'ils n'ont jamais porté la plante-hôte ou ne l'ont pas portée depuis de longues années. Ainsi les *Casuarina* semés en Afrique ou en Amérique tropicales

nodulent assez souvent, bien qu'ils aient une origine géographique toute différente et que rien ne puisse laisser présager la présence de leur endophyte dans ces régions.

BECKING (1966) constate que sur douze sols n'ayant pas porté d'Aulne depuis au moins 42 ans, onze ne provoquent pas la nodulation, alors que celle-ci intervient chez le douzième recevant du fumier de ferme ; elle se produit aussi dans une terre de jardin.

Aussi a-t-on supposé que les endophytes des non-Légumineuses étaient plus ou moins communs dans les sols et non spécifiques ; or nous verrons que ce second point est inexact.

Une autre hypothèse considère qu'ils sont capables de subsister et même de proliférer dans le sol en l'absence de leur hôte, comme l'a montré ROSSI (1964), mais il s'agissait alors d'un sol stérile.

Il est vrai que GEL'TSER (1965) croit que l'état normal des végétaux supérieurs est la symbiose ; si elle n'apparaît pas, par exemple lors des semis, c'est que des conditions défavorables s'opposent à sa manifestation. Il y a là une affirmation surprenante ; mais a-t-on le droit de la rejeter *a priori* ?

6° Spécificité des endophytes

Les essais dont nous rendrons compte ont tous été réalisés à l'aide de broyats de nodules et montrent, comme chez les Légumineuses, l'existence de groupes d'inoculation croisée.

Dès 1918, MIEHE montrait qu'une bouillie de nodules d'*Alnus* ne provoquait pas la nodulation de *Casuarina*. Elle est aussi inefficace pour les représentants des autres familles : Myricacées, Eléagnacées, Rhamnacées, Coriariacées. Par contre, l'inoculation croisée est possible entre espèces du même genre : *Alnus* (sauf *A. rubra*) ou *Casuarina*, ou de la même famille (Eléagnacées). Mais cette règle n'est pas sans exceptions.

Ailleurs, l'infection est possible, mais son efficacité est limitée ou bien elle conduit à la formation de nodosités inactives : ainsi l'inoculum de *Myrica gale* provoque une faible nodulation chez *M. cordifolia* et *M. cerifera* et la fixation d'azote reste insuffisante pour subvenir aux besoins de la plante (GARDNER et BOND, 1966). BECKING (1966) constate que des nodules broyés d'*Alnus glutinosa* infectent faiblement (28 %) *A. rubra* en donnant des nodosités anormales dont certaines portent des racines à géotropisme négatif.

7° Influence des facteurs externes

a) **Pression d'oxygène.** — L'oxygène est inhibiteur pour tous les systèmes fixateurs et l'on pense qu'il existe une compétition entre l'azote et l'oxygène aux fortes tensions de ce dernier, peut-être par suite d'oxydations inactivant les systèmes fixateurs (hémoglobine). Ceci est vérifié par exemple en utilisant des mélanges gazeux pauvres en N, c'est-à-dire dans des conditions tout à fait artificielles : ainsi dans le cas d'un

mélange à 10 % d'N, une tension partielle de 20 % d'O₂ — c'est-à-dire normale — réduit l'activité fixatrice de nodules excisés ; une tension de 50 % l'annule. Mais à 30 % d'N, avec *Casuarina*, l'effet inhibiteur de l'oxygène est déjà moins net. Chez *Myrica gale*, dans un mélange à 10 % d'N, l'abaissement de la tension d'oxygène est aussi inhibiteur, mais uniquement pour des valeurs très faibles de celle-ci.

Dans des conditions plus naturelles, la tension d'oxygène optimale se trouve aux alentours de la normale, entre 12 et 25 %. En anaérobiose, même partielle, la fixation est très réduite et les nodosités sont donc localisées aux couches supérieures du sol, par exemple jusqu'à 10-15 cm chez *Casuarina* (DOMMERGUES, 1966).

b) pH. — L'infection des racines est favorisée par des valeurs proches de la neutralité, l'optimum en milieu liquide sans N combiné se trouve au voisinage de 6,3 pour *Alnus*, *Myrica*, *Hippophaë* ou de 7,0 pour *Casuarina*. Les valeurs minimales sont plus variables suivant les cas : la nodulation est supprimée au-dessous de pH 4,0-4,2 chez *Alnus* ; elle est très réduite dès pH 5,0 chez *Casuarina* et nulle à pH 4,0 tandis que l'endophyte d'*Hippophaë* ne la provoque plus dès pH 5,0. *Myrica gale* qui, dans la nature, vit dans les tourbières acides, semble le plus tolérant : l'optimum pour sa nodulation se situe à pH 5,4 alors que le minimum est de l'ordre de pH 3,3. Il semble que l'action du pH s'exerce sur l'endophyte plutôt que sur l'hôte, puisque pH 3,3 correspond à l'optimum de croissance de *M. gale* dans un milieu contenant de l'N combiné.

Pour les valeurs comprises entre l'optimum et le minimum, le taux de nodulation est plus ou moins réduit, mais la fixation d'N semble satisfaisante et la croissance des plantes est bonne.

c) Influence de l'N combiné. — L'influence défavorable de ce dernier sur la formation des nodosités a déjà été signalée chez les Légumineuses (cf. p. 624). Il en va de même ici et la nodulation est supprimée dans les cultures recevant de fortes doses d'N combiné : 200 à 400 ppm pour l'Aulne.

Un apport modéré d'N-NH₄ peut être avantageux en culture hydroponique pour de jeunes individus, sans doute parce que ces derniers sont alimentés à un moment où leurs nodosités ne sont pas encore développées et actives : la croissance de la plante est meilleure, les nodules sont plus nombreux et plus gros. Cependant leur poids, rapporté à la matière sèche totale de la plante, est plus faible que sur les milieux sans azote (*Alnus*, *Myrica*, *Casuarina*). Dans ces conditions, l'activité fixatrice par unité de poids de nodule est parfois un peu diminuée mais la fixation totale par plante est accrue, chez *Alnus* tout au moins. Dans les trois cas étudiés, un effet dépressif net n'apparaît qu'à des doses d'N combiné de 100 à 150 ppm, mais la nodulation reste encore appréciable (tableau XC).

Chez *Alnus glutinosa*, PIZELLE (1966) montre que l'action défavorable de l'N s'exerce principalement de façon locale, mais qu'il existe aussi une certaine action générale liée à une plus grande richesse de la plante en N.

TABLEAU XC. — INFLUENCE DE LA TENEUR DU MILIEU EN N SUR LA NODULATION
(d'après McCONNELL et BOND, 1957 et STEWART, 1963)

DOSE D'N (ppm)	POIDS DES NODULES PAR PLANTE (mg P.S.)	POIDS DE LA PLANTE (mg P.S.)	POIDS RELATIF DES NODULES % du poids total
<i>Alnus</i>			
0	3,3	65	5,3
10	5,5	394	1,7
50	3,6	436	1,0
100	2,6	403	0,7
PPDS (5 %)	0,9		0,8
<i>Myrica gale</i>			
0	4	33	12,2
10	17	304	5,4
50	24	561	4,2
100	19	488	3,6
<i>Casuarina</i>			
0	22	216	10,2
10	47	904	5,2
50	31	891	3,5
100	25	641	3,9
PPDS (5 %)	18	160	3,5

On peut admettre, en conclusion, que pour des essais *in vitro* assez prolongés, les individus ne recevant pas d'N combiné finiraient par l'emporter sur les autres, mais que, dans la nature, *Casuarina* et *Myrica* peuvent réaliser une fixation appréciable même dans des sols relativement riches en N (STEWART, 1963).

Hippophaë rhamnoides est beaucoup plus sensible à l'influence défavorable de l'N combiné que les plantes précédentes : des doses de 5 ppm sont déjà dépressives pour la nodulation et celle-ci est inhibée complètement à 50 ppm.

Au contraire, l'activité fixatrice de *Discaria toumatou* est faible et cette plante ne peut croître en culture hydroponique que sur un milieu enrichi. Cela n'exclut pas que, dans les conditions naturelles, elle puisse se contenter des quantités d'N que lui apporte la fixation symbiotique.

d) Eléments minéraux. — Leur influence a été étudiée dans le cas de l'Aulne.

Le P est indispensable à la nodulation et des doses suffisantes favorisent l'infection et l'initiation des nodosités dont le nombre augmente. Des doses très élevées sont capables de contrebalancer, en partie, l'effet inhibiteur de l'N. La carence en K ou Mg paraît sans effet alors qu'une déficience en Ca réduit la nodulation.

Le molybdène joue ici le même rôle essentiel que dans les autres cas de fixation de l'azote atmosphérique et s'accumule dans les nodosités, c'est-à-dire au lieu même de l'activité fixatrice, mais aussi dans les tiges. Ces points ont été mis en évidence chez

Alnus, *Myrica* et *Casuarina*. En milieu carencé, la nodulation n'est pas entravée et peut même être relativement accrue, mais la fixation d'N est très réduite et par conséquent la croissance.

Le cobalt est indispensable à la fixation d'N chez toutes les espèces étudiées (*Alnus*, *Myrica*, *Casuarina*, *Hippophaë*, *Coriaria*) comme chez les Légumineuses et se retrouve ici encore sous forme de vitamine B₁₂ ou d'analogues qui s'accumulent dans les nodosités et se forment peut-être sous l'influence de l'endophyte.

Enfin, tout récemment, BOND et HEWITT (1967) ont montré l'effet stimulant exercé par le cuivre sur la croissance de l'Aulne et sur sa teneur en N. Mais il n'est pas encore possible de préciser dans quelle mesure le Cu influe directement sur le processus fixateur.

e) **Autres facteurs.** — Comme chez les Légumineuses, la fixation d'azote est inhibée en présence d'hydrogène. 20 % de ce gaz suffisent pour inhiber de plus de 50 % l'activité des nodosités d'*Alnus*. De même, 1 % de CO suffit à l'annuler presque complètement.

Enfin un éclaircissement suffisamment intense au moment de l'inoculation et pendant les semaines suivantes provoque une augmentation du nombre et du poids des nodules par individu.

8° Mécanismes de la fixation

Les mécanismes biochimiques de la fixation d'azote restent à préciser ; ils offrent sans doute de grandes analogies avec ceux que l'on connaît chez les Légumineuses, comme le prouvent les effets du molybdène, du cobalt, de l'hydrogène, de l'oxyde de carbone, de l'azote combiné.

L'azote fixé se retrouve à l'état de substances dont l'N provient en général directement de l'ammoniac : acide glutamique et citrulline chez *Alnus*, amides chez *Myrica*. C'est sous forme de citrulline que l'N fixé est transféré de la racine aux organes aériens chez l'Aulne.

9° Preuves de la fixation symbiotique

La découverte de la symbiose fixatrice chez les Légumineuses a servi de modèle à des expériences réalisées sur l'Aulne dès 1895 puis sur la plupart des espèces énumérées au début de ce chapitre : *Myrica*, *Hippophaë*, *Eleagnus*, *Shepherdia*, *Ceanothus*, *Casuarina*, *Coriaria*, *Cercocarpus*. La réalité de la fixation se traduit par le fait que la plante pousse bien sur des milieux sans azote, à condition de porter des nodosités. Dans le cas contraire ou si l'on supprime les nodules existants, l'individu souffre et sa croissance reste très limitée. En outre, les plantes nodulées présentent des teneurs en N très supérieures aux autres.

Ces preuves indirectes ont été complétées depuis une quinzaine d'années par des démonstrations directes utilisant la méthode isotopique à l'¹⁵N et portant sur *Alnus*,

Myrica, *Hippophaë*, *Casuarina*, *Shepherdia*, *Ceanothus*, *Coriaria*, *Discaria*, et plus récemment *Dryas* et *Purshia*. De telles expériences ont été réalisées, pour la plupart, sur des nodosités excisées qui ont l'avantage de conserver leur activité fixatrice beaucoup plus longtemps que celles des Légumineuses. Mais elles l'ont été aussi sur des plantes entières. Elles apportent la preuve de ce que l'activité fixatrice est limitée aux nodosités. S'il ne faut pas oublier que certaines souches d'Actinomycètes isolées des nodosités — et dont nous n'avons pas de preuve absolue qu'elles représentent bien l'endophyte — ont une activité fixatrice en culture pure, il n'en reste pas moins que la plupart des auteurs attribuent cette activité à l'association de l'endophyte et de son hôte. A l'appui de cette conception, ils invoquent :

- la rapidité avec laquelle l' ^{15}N fixé diffuse jusque dans les organes aériens ;
- l'efficacité du phénomène, qui est supérieure à celle des fixateurs libres, comparable au contraire à celle des *Rhizobium* ;
- enfin le fait que la fixation est sous la dépendance des besoins de l'hôte, plus que sous celle des exigences de l'endophyte.

Mais aucun fait expérimental n'est venu confirmer cette hypothèse vraisemblable.

TABLEAU XCI. — FIXATION D'AZOTE PAR DIVERSES PHANÉROGAMES NON LÉGUMINEUSES

	MILLIGRAMMES D'N ACCUMULÉS PAR PLANTE		
	Première saison	Postérieurement	
<i>Alnus glutinosa</i>	300	2 500 (fin deuxième saison)	
<i>Myrica gale</i>	146	5 020 (fin troisième saison)	
<i>Hippophaë rhamnoides</i>	26	200 (fin deuxième saison)	
<i>Casuarina cunninghamii</i>	70	1 400 (en deux saisons et demie)	
<i>Eleagnus angustifolia</i>	—	186 (en une saison et demie)	
<i>Coriaria myrtifolia</i>	36	—	
(selon BOND, 1963)			

	¹⁵ N EN EXCÈS SUR LA NORMALE (ATOMES %)			
	Tige	Racines	Nodules	Nodules détachés
<i>Casuarina cunninghamii</i>	0,687	0,095	0,488	0,274-0,368
<i>Shepherdia canadensis</i>		0,037-0,153	Racines nodulées excisées	0,021-0,058

10° Bilan de la fixation symbiotique

L'activité fixatrice varie dans le temps : les nodosités jeunes sont plus efficaces que les nodosités âgées ; le phénomène est aussi plus intense en été qu'en fin de saison.

La majeure partie de l'azote fixé est exportée vers les divers organes de la plante (90 % selon STEWART, 1962), en cheminant le long du tissu vasculaire.

En sens inverse, l'hôte pourrait fournir à son associé des aliments essentiels, en particulier des sources de carbone : une incision annulaire interrompant le liber et donc le flux de la sève élaborée ralentit en effet la fixation d'azote.

Les chiffres des différents auteurs indiquent, après la première saison de végétation, la fixation de quantités importantes d'azote chez *Alnus glutinosa*, *Ceanothus velutinus*, *Myrica gale*, *Eleagnus*. Les chiffres sont beaucoup plus faibles dans le cas d'*Hippophaë*, *Casuarina* et *Coriaria* (tableau XCI).

A dire vrai, il vaudrait mieux déterminer l'efficacité de la fixation en l'exprimant en milligrammes d'N fixé par gramme de matière-sèche de la plante. On obtient ainsi, en un an, pour de jeunes *Casuarina cunninghamii* des valeurs de 23 à 26 mg/g, du même ordre de grandeur que pour *Ceanothus* ou *Alnus* ou que pour les Légumineuses.

11° Importance écologique

Un certain nombre d'études montrent que la fixation d'azote par les Angiospermes non Légumineuses peut être d'une réelle importance pratique dans le cas de mise en valeur de sols primitifs ou de restauration de terres épuisées par une exploitation inconsidérée. On a étudié en Alaska la colonisation des sols libérés par la régression des glaciers : elle est principalement le fait d'*Alnus crispa*, *Shepherdia* spp. et *Dryas drummondii*. Sous ce couvert mixte, se forme un humus acide où l'azote s'accumule à raison de 60 kg/ha/an. Le sol devient ainsi propre à l'installation de la forêt de Conifères. Les évaluations de LAWRENCE, dans cette même région, sont plus élevées : 155 kg/ha/an pour une aulnaie de cinq ans et les jeunes *Populus deltoides* qui s'y développent en reçoivent une stimulation considérable. Le rôle de *Dryas* dans cette association a été récemment précisé par LAWRENCE et ses collaborateurs (1967) : son activité fixatrice est inférieure à celle de l'Aulne mais, comme son pouvoir de dissémination est plus élevé, son développement est plus précoce et elle contribue ainsi à accélérer l'installation de la forêt dont la productivité est accrue.

Pour en revenir à l'Aulne, on a signalé une fixation globale de 700 kg/ha dans une aulnaie de sept ans.

Selon ALLEN et ALLEN (1964), TARRANT et MILLER évaluent à 36 kg/ha/an la fixation d'N dans une plantation mixte d'*Alnus rubra* et *Pseudotsuga menziesii*. Mais il faut ajouter à ce chiffre l'N potentiel contenu dans les organes vivants. En outre, la litière d'*Alnus* est plus vite restituée au sol et surtout plus vite minéralisée que celle des Conifères, de sorte que les cycles biogéochimiques sont accélérés. Le rapport C/N des

litières et des couches supérieures du sol est abaissé et la teneur en N des aiguilles de *Pseudotsuga* est de 50 à 60 % supérieure à ce qu'elle est dans une plantation pure. Ces auteurs pensent même qu'une plantation mixte est préférable à une plantation pure recevant une fumure N, en raison de la meilleure qualité de l'humus formé.

En Extrême-Orient, l'Aulne a été introduit dans certaines rotations à Formose pour la remise en valeur de terres épuisées par le Millet ; il a été cultivé au Japon en association avec *Myrica* et des Légumineuses pour la colonisation des pentes déboisées.

Dans un verger expérimental où les Pommiers sont séparés par des haies d'Aulne, les arbres sans fumure et sur végétation herbacée sont carencés en N, sauf au voisinage de la haie. Sur sol nu et avec engrais, l'Aulne n'a pas d'effet. Or, sous prairie, les nodules sont très nombreux et beaucoup plus rares en sol fertilisé, peut-être en raison de la présence de nitrates (DELVER et POST, 1968).

On a moins de renseignements sur les autres espèces.

Au Sénégal, DOMMERGUES (1963c) constate qu'une dune plantée de *Casuarina equisetifolia* depuis 13 ans s'est enrichie de 229 kg d'N par hectare et, si l'on tient compte de l'N accumulé dans la végétation, l'activité fixatrice atteint, en moyenne, au moins 58 kg/ha/an.

Dans les tourbières d'Ecosse, l'acidité limite la nodulation de *Myrica gale* et son pouvoir fixateur ne dépasserait pas alors 9 kg/ha/an. Mais ces faibles apports ont pourtant une signification écologique réelle en raison de la grande pauvreté des tourbières et de l'absence probable de tout autre organisme fixateur.

L'action favorable des *Ceanothus* sur la végétation associée et sur les stades sériels ultérieurs a été démontrée à diverses reprises en Californie. L'effet de *C. velutinus* sur la croissance de plantules de Pin équivaldrait à un apport de 35 ppm d'N et dépasserait celui d'*Alnus rubra*.

WEBSTER et ses collaborateurs (1967) pensent que l'activité fixatrice de *Purshia tridentata* pourrait être importante dans les forêts de *Pinus ponderosa*.

Enfin, on sait qu'une végétation nitratophile se rencontre constamment sous les buissons d'*Hippophaë rhamnoides* et STEWART et ses collaborateurs (1967) estiment l'activité fixatrice de cette espèce à 27 kg/ha/an d'N chez des individus jeunes alors qu'elle atteindrait près de 180 kg/ha/an pour des plants âgés de 13 ans ; elle diminue ensuite.

II. — LES NODULES FOLIAIRES DES RUBIACÉES

Les feuilles de différentes Rubiacées tropicales appartenant aux genres *Pavetta*, *Psychotria* et *Coprosma*, présentent de petites nodosités de la taille d'une tête d'épingle et contenant des Bactéries. Ces dernières se rencontrent dans les bourgeons au sein de masses gommeuses et envahissent les feuilles au fur et à mesure de leur développement. Celles-ci présentent, lorsqu'elles sont très jeunes, des sortes de poches sécrétrices communiquant avec l'extérieur par un fin canal. Si des Bactéries compatibles sont

présentes, elles y pénètrent et il se forme des tumeurs contenant de petites cellules de l'hôte entourées par la Bactérie symbiote, mais celle-ci demeure extracellulaire.

La transmission de la Bactérie associée est assurée par la graine où elle subsiste entre l'embryon et l'endosperme.

Du point de vue systématique, l'endophyte foliaire des Rubiacées doit être classé dans le genre *Klebsiella* (CENTIFANTO et SILVER, 1964). Il présente, dans les nodosités jeunes, une forme bacillaire normale, mais dans les tumeurs âgées apparaissent des formes filamenteuses, en massue ou ramifiées rappelant les bactéroïdes des *Rhizobium*. Enfin, dans les vieilles nodosités, il ne subsiste plus de l'endophyte que des granules.

Klebsiella rubiacearum a été isolé et cultivé sur divers milieux avec ou sans azote. Sur ces derniers, la croissance est meilleure en l'absence d'oxygène et le pouvoir fixateur atteint 4,54 mg d'N par gramme de glucose utilisé au cours des trois premiers jours. Il est donc du même ordre de grandeur que chez les Bactéries fixatrices libres.

On peut obtenir quelques individus sans nodules, soit par sélection, soit par traitement des graines à l'eau chaude : leur croissance est lente et ils demeurent chétifs, même si on leur fournit diverses formes d'N combiné. Si on les inocule à l'aide d'une culture pure de *K. rubiacearum*, ils deviennent peu à peu plus vigoureux et finissent par ne plus se distinguer des individus contaminés spontanément (SCHAEDE, 1962). Il en va de même chez des plants non nodulés quand des nodosités s'y développent accidentellement. Ainsi les relations entre l'endophyte et son hôte sont apparemment plus complexes que dans les autres cas de symbiose : la Bactérie crée les conditions indispensables au développement de la plante en lui apportant, selon toute vraisemblance, des substances de croissance non identifiées jusqu'ici. On sait seulement que l'acide gibbérellique peut remplacer, en partie, l'action stimulante de la Bactérie. Il est à noter que, chez certaines variétés, telles que *Pavetta indica* var. *tomentosa*, chez qui n'existent pas de poches sécrétrices, l'infection reste limitée au bourgeon apical et pourtant exerce le même effet stimulant que la présence de nodules foliaires.

Quant à la fixation d'N, elle est probable, mais non démontrée.

En dehors des Rubiacées, des nodosités dues à des Bactéries ont été signalées sur les organes aériens de certaines Myrsinacées et Dioscoracées ; ici encore, l'endophyte (*Xanthomonas*) exerce une action morphogénétique, mais la fixation d'N est peu probable (SCHAEDE, 1962 ; BOND, 1967).

III. — LES RACINES CORALLOÏDES DES CYCADALES

Les Cycadales actuellement vivantes comprennent une centaine d'espèces toutes tropicales, derniers représentants d'un vaste groupe de végétaux vasculaires dont l'apogée se situe vers la fin du Trias.

Ces plantes étranges, à port de Fougère arborescente ou de Palmier, présentent deux sortes de racines : les unes sont normales, à géotropisme positif et portent des racines

latérales coralloïdes, ramifiées en dichotomie, plus ou moins dilatées au sommet et à géotropisme négatif. Ces dernières peuvent donc émerger à la surface du sol et ont probablement la signification de pneumatophores. Leur anatomie très particulière a été longuement discutée et l'on peut y reconnaître une écorce externe, une écorce interne et un cylindre central.

Ces racines coralloïdes sont d'abord aseptiques et, si elles le demeurent, elles restent petites, jaunâtres et ne vivent pas plus d'un an.

Elles peuvent aussi être envahies par des Algues bleues des genres *Nostoc* ou *Anabaena* qui s'installent entre les écorces externe et interne. Les cellules situées à ce niveau s'allongent alors dans le sens radial en formant des sortes de piliers entre lesquels subsistent de vastes lacunes remplies de mucilage que colonise l'Algue endophyte (fig. 170). Les racines coralloïdes infectées se transforment ainsi en nodules verdâtres,

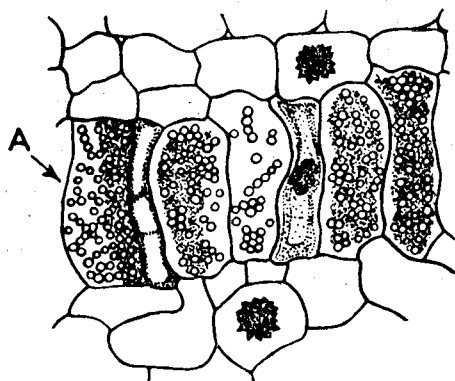


FIG. 170. — Fragment d'une coupe transversale de nodosité de *Cycas* montrant les cellules à *Anabaena* (A) allongées perpendiculairement à la surface de l'organe (BOULLARD, 1967).

bien développés, persistants, et leur orientation devient variable et plus ou moins plagiotrope, de sorte qu'elles s'étalent parallèlement à la surface du sol.

La formation des racines coralloïdes est donc indépendante de l'infection et SCHAEDE (1962) souligne que la plante peut croître de façon satisfaisante en l'absence d'endophyte.

Ces formations ont été étudiées chez 26 espèces de Cycadales, les Algues associées à la plante ont été isolées à diverses reprises et, dès 1935, WINTER prouvait qu'elles étaient capables, en culture, de fixer l'N atmosphérique. Ces résultats ont été confirmés à diverses reprises et, enfin, la méthode isotopique montre que ces racines une fois détachées ont un pouvoir fixateur, si elles sont infectées (tableau XCII) et n'en possèdent point en l'absence d'endophyte (BERGERSEN et coll., 1965).

Cependant, les relations existant entre celui-ci et son hôte demeurent insuffisamment connues : dans les racines coralloïdes souterraines, par exemple, les Algues sont placées dans des conditions d'obscurité excluant toute activité photosynthétique, de sorte qu'elles doivent recevoir de la plante des aliments carbonés. De plus, on a été incapable de les cultiver *in vitro* si ce n'est en présence de sucre. Mais à l'obscurité, la fixation

TABLEAU XCII. — FIXATION DE L' ^{15}N PAR LES RACINES DES CYCADALES
(selon BOND, 1967)

ESPÈCE	^{15}N EN EXCÈS EN ATOMES % DE L' N TOTAL DE LA PLANTE	N FIXÉ ($^{14}\text{N} + ^{15}\text{N}$)	
		en μg	En % de l' N total de la plante
<i>Ceratozamia mexicana</i>	0,264-0,709	129-260	0,9 -2,1
<i>Encephalartos villosus</i>	0,010-0,062	6- 29	0,03-0,18

d' ^{15}N reste modérée ; elle est deux fois plus intense et du même ordre que chez les nodosités de Soja lorsqu'on utilise des racines coralloïdes superficielles et qu'on les expose à la lumière.

L' N fixé s'accumule au niveau des racines mais diffuse aussi dans le reste de la plante, à l'exception des limbes et, en même temps, se produit un dégagement d'hydrogène (BERGERSEN et coll.).

La signification écologique de cette symbiose n'a d'ailleurs qu'une portée limitée puisque les Cycadales ne tiennent plus qu'une place bien réduite dans la végétation du globe et que leur croissance extrêmement lente ne permet pas d'envisager leur utilisation pratique. Mais, du point de vue biologique, sa grande ancienneté, les problèmes très particuliers qu'elle pose, méritent une étude plus approfondie.

IV. — AUTRES CAS DE SYMBIOSE AVEC DES ALGUES BLEUES

Certaines Hépatiques (*Blasia*, *Cavicularia*, et les Anthocérotales) possèdent à la face inférieure de leur thalle des vésicules qui peuvent être envahies par des Cyanophycées du genre *Nostoc*. La spécificité de cette symbiose paraît d'ailleurs très large puisque des souches isolées de *Cavicularia* ou même de *Cycas* ont pu être inoculées avec succès à *Blasia*. Cependant, des Cyanophycées appartenant à d'autres genres, par exemple, des *Oscillatoria*, même si elles peuvent envahir les cavités de l'Hépatique, ne semblent pas réaliser le même type de symbiose.

En l'absence d'Algue bleue, *Blasia* et *Cavicularia* se développent parfaitement bien en association avec des Bactéries du sol.

BOND et SCOTT (1955) ont pourtant montré que la symbiose de l'Hépatique et de *Nostoc* permettait la fixation d'azote atmosphérique au niveau des cavités contenant l'Algue et que l' ^{15}N semblait diffuser ensuite dans toute la plante (tableau XCIII).

Il faut encore mentionner le cas des *Azolla*, petites Fougères aquatiques surtout répandues dans les zones tropicales et qui vivent en association permanente avec des

TABLEAU XCIII. — FIXATION DE L'N ÉLÉMENTAIRE
PAR CERTAINS THALLOPHYTES
(selon BOND et SCOTT, 1955)

ESPÈCE	TAUX D' ¹⁵ N EN ATOMES %	
	Traité	Témoin
<i>Collema granosum</i>	0,422	0,377
<i>Leptogium lichenoides</i>	0,555	0,372
<i>Blasia pusilla</i>	0,650	0,382
<i>Alnus glutinosa</i>	0,557-0,757	0,363

Algues bleues du genre *Anabaena* ; ces dernières croissent dans le mucilage qui recouvre le sommet de la tige et remplit des cavités spéciales de certaines feuilles de la plante-hôte. L'Algue est transmise de génération en génération en passant dans les mégasporanges de la Fougère puis sur ses prothalles. Cependant *Azolla* pousse bien en l'absence de son partenaire et, dans certaines conditions, même aussi bien qu'un individu normal.

Le pouvoir fixateur de l'association est cependant assez élevé pour que l'on ait conseillé, au Japon, l'utilisation d'*Azolla* comme engrais vert et comme fourrage.

SCHAEDE (1962) fait remarquer comment dans les trois cas précédents (*Cycas*, *Blasia*, *Azolla*) où la plante vit en symbiose avec un endophyte intercellulaire, la signification de l'association, bien qu'elle soit encore mal connue, ne semble pas aussi essentielle pour l'hôte que dans les cas où les symbiontes sont intracellulaires (Légumineuses et autres Dicotylédones).

Un dernier exemple d'une bien plus grande importance écologique nous est fourni par les *Lichens*. On se rappelle qu'il s'agit d'organismes complexes résultant de l'association d'Algues — qualifiées de *gonidies* — et de Champignons entre lesquels s'établissent des interactions compliquées, dont on a longuement discuté et qui sont interprétées de façon variable suivant les auteurs. Nous ne pouvons nous étendre sur ces différentes conceptions malgré tout leur intérêt pour la biologie. Il semble raisonnable de considérer l'association lichénique comme une symbiose dans laquelle la gonidie apporte les produits de l'assimilation chlorophyllienne et, sans doute, d'autres substances de croissance nécessaires au Champignon. Celui-ci, de son côté, crée des conditions de milieu favorable à l'Algue : le feutrage superficiel ou cortex les protège contre des intensités lumineuses excessives. Le mycélium s'imbibe en utilisant l'humidité atmosphérique et surtout l'eau des précipitations, soit par capillarité, dans son feutrage, soit en raison de l'hygroscopicité des membranes hyphales ; chez les Lichens les plus différenciés existent même des hyphes hygroscopiques spécialisées. Le Champignon apporte aussi, très probablement, des sels minéraux qu'il puise dans le substrat et dont les

Algues sont avides. Il leur fournit enfin des substances organiques sur la nature desquelles on est mal renseigné ; l'extrait de mycélium accélère leur croissance *in vitro*, sans toutefois augmenter leur productivité finale, peut-être en stimulant l'activité photosynthétique.

Mais comme toute symbiose, l'association lichénique est à la limite du parasitisme qui peut se manifester plus ou moins ouvertement : les hyphes enserrant les cellules de l'Algue, dissolvent en partie leurs parois, ou bien elles y enfoncent des suçoirs, et tout ceci peut conduire à une destruction partielle de la gonidie avec formation de « zones nécrâles ».

Les Champignons lichénisés sont pour la plupart des Ascomycètes appartenant à des familles particulières ; plus rarement, ce sont des Basidiomycètes. L'Algue appartient souvent aux Chlorophycées (Chlorococcales, Trentepohliales), parfois aux Cyanophycées (*Chroococcus*, *Gloeocapsa*, *Rivularia*, *Scytonema*, *Nostoc*, etc.) et il arrive même qu'un Lichen ait deux gonidies différentes. Ainsi *Solorina crocea* comprend une Algue verte du genre *Coccomyxa* sous son cortex, alors que sa médulle renferme un *Nostoc*. Enfin, dans quelques genres (*Peltigera*, *Stereocaulon*, *Lobaria*), dont la gonidie est une Chlorophycée, le thalle présente de petites excroissances ou céphalodies au niveau desquelles le mycélium du Champignon est associé à une Cyanophycée (*Nostoc*, *Stigonema*, etc.).

Nous savons qu'un certain nombre d'Algues bleues fixent l'N atmosphérique avec des rendements assez élevés ; aussi les Lichens dont la gonidie est une Cyanophycée active, par exemple les *Leptogium* ou les *Collema*, sont-ils capables de fixer l'N comme l'ont montré BOND et SCOTT (1955) (tableau XCIII) grâce à la méthode isotopique. De même les céphalodies sont interprétées aujourd'hui (QUISPEL, 1959) comme des organes trophiques fournissant à l'association l'N dont elle a besoin. Au contraire, en l'absence d'Algue bleue, aucune fixation ne se produit de sorte que les aptitudes fixatrices sont limitées à certains Lichens foliacés.

Mais il ne faut pas réserver la notion de lichénisation aux seuls cas où se forment des complexes différenciés morphologiquement. Il existe, entre Algues et Champignons, bien d'autres possibilités d'associations dont les significations écologiques sont plus ou moins semblables : nous connaissons les croûtes lichéniques recouvrant certains sols désertiques. On trouve encore des Algues lichénisées dans des climats plus humides, sur les feuilles, sur les troncs des arbres, sur les murs, sur les carpophores de Champignons supérieurs. Tous les intermédiaires existent entre cette lichénisation fruste et les Lichens au sens étroit et classique du terme.

L'association de l'Algue et du Champignon les rend capables de se développer dans des milieux où ils ne pourraient subsister seuls, en particulier dans des stations soumises à une insolation extrême (rochers, murs, sols nus). En effet, les tolérances thermiques des Lichens sont très larges : leur respiration est active de -10° à $+60^{\circ}$ et l'assimilation chlorophyllienne de -40° à $+45^{\circ}$. D'autre part, la protection des hyphes arrêtant une partie du rayonnement lumineux, jointe à la présence de mucilages chez les Cyanophycées gonidiales, retarde la dessiccation, mais avec une efficacité très limitée. Les Lichens ne possèdent aucune adaptation au xérophytisme. De plus, leur reviviscence est limitée dans le temps, de quelques semaines à 1 an.

On les rencontre donc surtout dans les stations humides où se produisent des brouillards fréquents, par exemple au niveau de la ceinture nuageuse en montagne. Mais alors, bien souvent, il ne s'agit pas de complexes fixateurs d'N et ces derniers semblent plus importants dans les régions arides, là où ils peuvent profiter des rosées abondantes ou d'accidents de terrain retenant quelque temps les eaux de ruissellement.

Pourtant les Lichens foliacés, par exemple les *Peltigera*, ne sont pas rares dans les landes ouvertes des régions tempérées et des hautes montagnes ; ils y bénéficient d'un large éclaircissement et sont peut-être capables d'enrichir des sols acides où les fixateurs libres sont probablement très rares, voire même absents.

Malheureusement, bien des points concernant le rôle des Lichens dans le cycle de l'N restent du domaine conjectural, faute d'études suffisamment nombreuses.

V. — LES NODOSITÉS RADICULAIRES DES CONIFÈRES

Nous avons réservé pour la fin cet aspect particulier des symbioses fixatrices, car il ne met plus en jeu des endophytes procaryotes, mais bien des Champignons filamenteux, de sorte que nous touchons ici au domaine des mycorrhizes, mais de mycorrhizes assez particulières, semble-t-il.

La présence de nodosités radiculaires a été signalée chez *Sciadopytis verticillata*, *Libocedrus bidwillii*, et diverses espèces des genres *Araucaria* et *Agathis* ; mais on a surtout étudié le cas des Podocarpacees dont plus de 40 espèces sont nodulées.

Le long des racines se forment, sur deux rangs diamétralement opposés, d'innombrables nodosités sphériques de 1 à 2 mm de diamètre (fig. 171). Elles ont la valeur de racines courtes comprenant un cylindre central relié à celui de la racine qui les porte ; il est entouré d'un endoderme et d'un parenchyme cortical bien développé, composé de grandes cellules infectées et plurinucléées. La nodosité est recouverte d'un épiderme pilifère. A la fin de la période de végétation, l'endophyte est digéré puis, à la

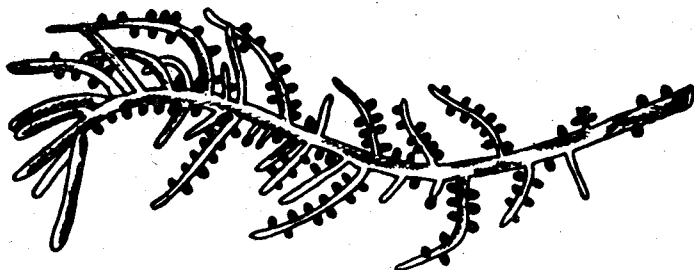


FIG. 171. — Racine de *Podocarpus* portant de très nombreux petits nodules disposés sur deux rangs (schéma emprunté à BOULLARD, 1967).

saison suivante, un nouveau nodule se forme, à partir du péricycle, est infecté et écrase les vestiges de celui de l'année précédente. Mais, comme chez les Cycadales, la nodulation ne semble pas induite par l'infection et peut se produire spontanément (BAYLIS et coll., 1963).

L'endophyte des Podocarpacees est de nature fongique et les nodosités peuvent être considérées comme des mycorrhizes endotrophes. Les cellules infectées contiennent en effet un mycélium non cloisonné produisant des vésicules terminales et des formations arbusculaires. On a même observé des structures rappelant les oogones des Péronosporacées. Mais l'endophyte n'a pu être isolé car il pousse à peine sur les milieux gélosés habituels et, en culture de tissus, reste plus ou moins limité à l'explantat. On ne sait donc pas comment il se reproduit et se transmet à son hôte, ni comment il pourrait éventuellement subsister dans le sol (BECKING, 1965).

Les *Podocarpus*, à condition d'être nodulés, sont capables de croître de façon satisfaisante sur des sols pauvres en azote et la méthode isotopique a permis de prouver que des nodosités excisées fixaient l' ^{15}N , mais en quantités réduites, vingt fois plus faibles que dans le cas du Soja (BERGERSEN et COSTIN, 1964). De plus, l'azote fixé au niveau des nodules ne diffuse que faiblement dans les racines. Enfin, les *Podocarpus*, même infectés et nodulés, croissent très mal en culture hydroponique sans azote et montrent des symptômes évidents de carence. Il faut donc admettre, ou bien que leur pouvoir fixateur est trop faible, mais c'est peu probable étant donné la lenteur de leur développement, ou bien que l'N n'est pas le seul facteur d'une bonne croissance (BECKING, 1966).

Les *Podocarpus* sont principalement représentés dans certaines régions de l'hémisphère austral où ils peuvent jouer un rôle important dans la colonisation des sols squelettiques. Il serait intéressant de préciser si leurs nodosités, comme les autres mycorrhizes, doivent l'effet stimulant que certains leur ont reconnu à une absorption accrue des cations par les plantes infectées ou à une fixation d'N.

Il faut d'ailleurs rappeler que divers auteurs ont apporté des arguments sérieux en faveur d'une assimilation de l'N élémentaire par certaines espèces du genre *Pinus* lorsqu'elles sont mycorrhizées. Mais les preuves irréfutables manquent encore et, si fixation il y a, elle doit être très faible.

CHAPITRE VI

LES ASSOCIATIONS MYCORRHIZIENNES

Introduction. — Nous rappellerons brièvement leurs aspects morphologiques et physiologiques longuement étudiés par HARLEY (1959) ou SCHAEDE (1962) et nous nous intéresserons davantage à leur écologie et aux relations des Champignons mycorrhiziens avec la microflore du sol. Le lecteur francophone dispose maintenant d'un ouvrage de base avec la monographie de BOULLARD (1968).

Une mycorrhize peut se définir comme un organe complexe résultant de l'association intime d'une racine et d'un Champignon qui réalisent ensemble une symbiose vraie, mutualiste, une eu-symbiose. Par la suite, ce terme a été étendu aux associations symbiotiques existant entre des mycéliums et les prothalles des Ptéridophytes ou même les organes d'absorption des Bryophytes.

Les mycorrhizes présentent donc une répartition très large dans le règne végétal et existent depuis les temps les plus lointains (Dévonien, Carbonifère).

On peut les considérer comme le résultat d'un effet rhizosphère intense et sélectif, assurant la présence exclusive d'un mycélium donné. Les travaux de WILDE et de ses élèves soulignent bien la suite continue d'associations possibles entre Champignons et racines, depuis une *symbiose rhizosphérique* où le mycélium prolifère au voisinage de la racine ou même à sa surface (*mycorrhize péritrophe*), jusqu'aux véritables mycorrhizes comportant une pénétration du Champignon dans les tissus de son hôte. Il semble bien prouvé que les associations lâches rhizosphériques ou péritrophes peuvent être favorables à la plante, mais la mycorrhize au sens strict comporte une union plus intime, mettant en jeu des phénomènes de virulence et des réactions de défense. *Il y a, à proprement parler, une infection* de la plante ; cette dernière y répond en développant des symptômes morphologiques et physiologiques qui ont éventuellement un rôle protecteur : malformation des racines, hypertrophie cellulaire, accumulation de tannoïdes colorés ou de composés antiseptiques, formation de tubes cellulotiques engainant les hyphes infectantes, phagocytose.

GARRETT classe d'ailleurs les Champignons mycorrhiziens parmi les Champignons des racines, à côté des parasites spécialisés, et Noël BERNARD désignait l'association des Orchidées et de leur endophyte comme « *une symbiose aux frontières de la maladie* ».

Ce qui distingue les mycorrhizes d'une association hôte-parasite banale, c'est que l'agression du Champignon et les réactions de la plante sont si bien équilibrées que les deux partenaires forment entre eux une union heureuse et mutuellement bénéfique. C'est aussi que leur association est plus ou moins constante : certaines plantes paraissent être toujours mycorrhizées et certains Champignons ne peuvent vivre, semble-t-il, qu'associés aux racines d'hôtes déterminés.

Cependant, il est des cas où la mycorrhization est plus aléatoire et il semble qu'elle puisse intéresser des Champignons généralement saprophytes ; enfin, il arrive, dans certaines circonstances avantageant l'un des partenaires aux dépens de l'autre, que la symbiose fasse place au parasitisme avec, pour conséquence, l'élimination du Champignon ou l'affaiblissement de l'hôte.

I. — DIFFÉRENTS TYPES

On distingue deux catégories principales parmi les mycorrhizes : les mycorrhizes ectotrophes et les mycorrhizes endotrophes.

1° Mycorrhizes ectotrophes

a) **Répartition.** — On les rencontre surtout chez de nombreux arbres forestiers, dans les régions tempérées et, en altitude, dans la zone équatoriale. Elles sont particulièrement fréquentes chez les Pinacées, parmi les Conifères et, parmi les « feuillus », chez les Bétulacées et les Fagacées.

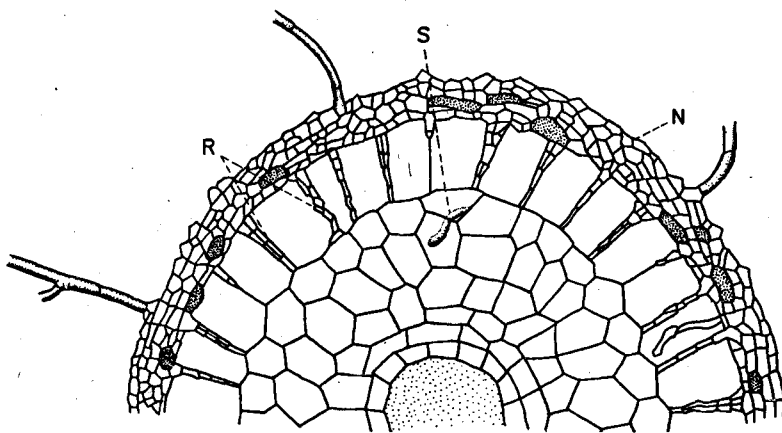


FIG. 172. — Coupe schématique d'une mycorrhize ectotrophe. N, manteau ; R, réseau de Hartig ; S, suçoir (HARLEY, 1965).

Leurs agents sont, le plus souvent, des Basidiomycètes supérieurs des genres *Amanita*, *Boletus*, *Cantharellus*, *Cortinarius*, *Gomphidius*, *Hebeloma*, *Hygrophorus*, *Inocybe*, *Lactarius*, *Russula*, *Tricholoma*, *Rhizopogon*, etc. *Cenococcum graniforme* est une forme imparfaite très répandue et enfin quelques Ascomycètes sont mycorrhiziens. La spécificité de ces Champignons est variable : parfois étroite, mais plus souvent large ou très large. Dans ce dernier cas, il faut probablement distinguer, à l'intérieur des espèces fongiques, des races adaptées plus particulièrement à certains hôtes et à certains milieux. C'est le cas, par exemple, de *Boletus scaber* (LEVISOHN, 1960).

b) Morphologie. — Le système racinaire d'arbres tels que le Hêtre ou le Pin montre des racines longues, à croissance continue, sur lesquelles se forment latéralement des racines courtes qui sont infectées en plus ou moins grand nombre suivant l'intensité de mycorrhization ; elles se reconnaissent alors facilement à leur forme et leur teinte particulières. L'examen microscopique (fig. 172) montre leur surface recouverte d'un manchon mycélien dense, le *manteau*. De celui-ci se détachent, vers l'extérieur, des filaments ou des synnémas rayonnant dans le sol et, vers l'intérieur, des hyphes qui pénètrent entre les cellules du parenchyme cortical de la racine, en formant un réseau intercellulaire dit *réseau de Hartig*.

Autour de ce type existent de nombreuses variations : ainsi les hyphes du réseau de Hartig émettent parfois des suçoirs pelotonnés ou coralloïdes pénétrant dans les cellules de l'écorce. Ces derniers sont alors sujets à la phagocytose de la part de l'hôte. Lorsque ces pénétrations intracellulaires sont fréquentes et le manteau réduit, on parle parfois de *mycorrhizes ectendotrophes*. Leur signification a été discutée : elles peuvent correspondre simplement à une morphologie particulière comme elles pourraient être un signe d'agressivité accrue de la part du Champignon, conduisant à un affaiblissement de la plante.

Si, pour une raison quelconque, une racine courte n'est pas infectée, elle meurt ou bien elle s'associe à d'autres Champignons : des espèces radicicoles comme les divers *Mycelium radialis atro-virens*, stériles, ou certains Rhizoctones ou même des espèces telluriques. Le complexe ainsi formé est déséquilibré et le Champignon se trouve phagocyté ou bien se comporte en parasite : c'est ce que la plupart des auteurs appellent des *pseudomycorrhizes*.

2° Mycorrhizes endotrophes

Elles sont beaucoup plus répandues et se rencontrent sur des arbres ou arbustes (Poirier, Erable, Cyprès, Genévrier, etc.) comme sur les plantes herbacées.

Sur plus de 1 000 espèces de la flore japonaise, 84 % sont mycorrhisées, mais 3 % seulement possèdent des mycorrhizes ectotrophes. Toutefois, certains taxons paraissent n'en former jamais : Equisétacées, Polygonacées, Crucifères, Centrospermales (sauf les Cactacées), Cypéracées, Joncacées, etc.

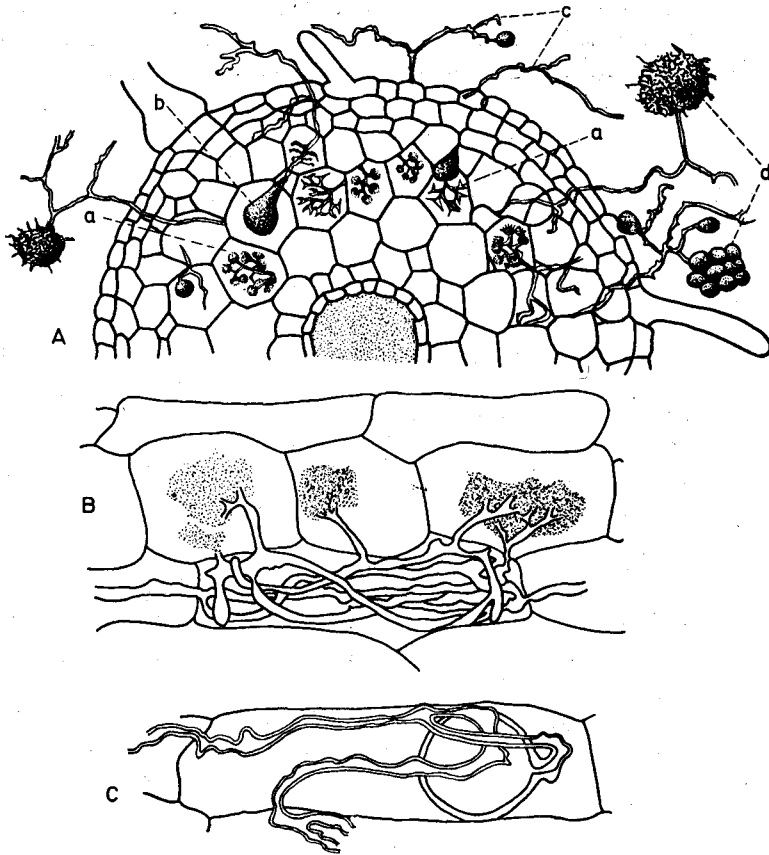


FIG. 173. — Mycorrhize endotrophe à mycélium vésiculo-arbusculaire. A, coupe schématique : a, arbuscules ; b, vésicules ; c, hyphes pénétrantes ; d, fructifications externes ; B, arbuscules en cours de digestion (*Endogone fasciculata*) ; C, vésicule intracellulaire du même (A selon HARLEY, 1965 ; B et C selon GERDEMAN, 1965).

Les mycorrhizes endotrophes se rencontrent surtout sur de jeunes radicelles souvent d'aspect normal. Elles ne comprennent plus ni manteau ni réseau de Hartig, mais seulement des hyphes intercellulaires envoyant des suçoirs très développés dans les cellules du parenchyme cortical de la racine. Certaines mycorrhizes de ce groupe contiennent un mycélium cloisonné et ont une morphologie variable, comprenant des intermédiaires gradués avec le type ectendotrophe (Ericacées) et des complexes endotrophes caractéristiques (Orchidacées). Les autres contiennent un mycélium continu, « phycomycétoïde », et sont toujours endotrophes. Les suçoirs sont tantôt pelotonnés, tantôt très divisés et alors on les qualifie d'*arbuscules*. Ces derniers sont surtout représentés dans

le cas où le mycélium est « phycomycétoïde » et l'on trouve alors, en outre, le long des hyphes ou au sommet de certains rameaux, des dilatations riches en gouttelettes lipidiques, des *vésicules*. Les mycorrhizes présentant ces deux types de structures sont qualifiées de *vésiculo-arbusculaires* (fig. 173).

Le caractère essentiel des mycorrhizes endotrophes est que le mycélium intracellulaire — à l'exception des vésicules — est toujours digéré, au moins en partie. Les organes adultes peuvent ainsi devenir aseptiques chez les plantes pérennes.

Les agents des mycorrhizes endotrophes sont variés : chez les Orchidées, ce sont encore des Basidiomycètes supérieurs (Rhizoctones, Polypores, Bolets, Marasmes) ou des formes imparfaites. Les endophytes des Ericacées sont mal connus malgré de nombreuses recherches : on a parlé de *Phoma* (Sphéropsidales) envahissant toute la plante et fixant l'N atmosphérique, mais c'est sûrement inexact ; on a décrit ensuite des *Cladosporium* ou des Mucorales sur lesquelles on est mal renseigné.

Enfin, dans les mycorrhizes vésiculo-arbusculaires, interviennent des Champignons inférieurs, peut-être des Oomycètes (*Pythium*), sûrement des Zygomycètes du genre *Endogone* dont les fructifications se forment dans le sol ; mais l'inventaire des endophytes est très difficile car ils se cultivent mal ou pas du tout et beaucoup reste encore à trouver en ce domaine.

Dans le cas des *Endogone*, la mycorrhization est un processus lent : l'infection demande trois semaines et le taux de contamination varie de 80-100 % (dans les pâturages ou pour les arbres fruitiers) à moins de 50 % dans les formations herbacées spontanées ; il n'en reste pas moins que, dans les associations du *Brometum*, 80 % des espèces sont mycorrhizées.

Ici encore, la spécificité paraît faible aussi bien dans le cas des mycorrhizes des Orchidacées que dans celui des complexes vésiculo-arbusculaires.

II. — LA SYMBIOSE MYCORRHIZIENNE

1° Ce que reçoit le Champignon

a) *Sources de carbone.* — En culture pure, les Champignons des mycorrhizes ectotrophes exigent, pour la plupart, des aliments carbonés simples : certains hexoses et pentoses, maltose, glycérol, mannitol. L'amidon est parfois utilisé, mais seulement en présence de sucre. Enfin, même s'ils possèdent sans doute des aptitudes pectinolytiques, ils n'attaquent pas les sources complexes de C (cellulose, lignine, humus).

Or sucre, amidon, pectines n'ont dans le sol qu'une existence éphémère parce que la microflore les consomme au fur et à mesure de leur apparition. Les agents des mycorrhizes peuvent, au contraire, bénéficier sans concurrence des sucres et de l'amidon élaborés par leur hôte grâce à la photosynthèse. D'ailleurs, les premiers complexes

n'apparaissent, chez les jeunes plantules, qu'à partir du moment où se sont développées les premières feuilles normales.

Le manteau attire en quelque sorte les photosynthates, comme le fait un organe souterrain en croissance tel qu'un tubercule en formation, ou encore comme un parasite obligatoire (rouille) (HARLEY, 1968).

Mais on connaît certaines symbioses ectotrophes dans lesquelles interviennent des Champignons cellulolytiques ou même ligninolytiques (*Boletus subtomentosus*, *Laccaria laccata*, *Lactarius deliciosus*, *Tricholoma* spp.). La présence de l'hôte n'a plus alors la même signification nutritionnelle ni le même caractère de nécessité. On peut ainsi distinguer des mycorrhizogènes facultatifs et des espèces plus exigeantes, cessant de fructifier si on les sépare de leur hôte vivant. Ce dernier point a été démontré par ROMMELL qui creusait des tranchées isolant le sol du tronc de l'arbre, mais il se rencontre également après les coupes à blanc. A vrai dire, nous ne savons pas si le traitement entraîne la mort des Champignons symbiotiques ou si ces derniers survivent sans se manifester par la production de leurs carpophores.

Les endophytes des Orchidacées semblent posséder, au contraire, certaines aptitudes à dégrader les sources complexes de carbone et seraient donc capables de puiser dans l'humus, au sens large, des aliments non seulement azotés mais aussi carbonés et de les transférer à leur hôte lorsque celui-ci n'en peut faire la synthèse (Protocormes, Orchidées « saprophytes ») ; la plante se comporte alors en parasite du Champignon qui peut subsister normalement sans son hôte dans les litières (cas de l'endophyte de *Goodyera repens*).

Enfin le comportement des *Endogone*, à ce point de vue, est mal connu, mais il est peu probable qu'ils possèdent des aptitudes importantes à dégrader les substances complexes.

b) Facteurs de croissance. — Dans la mesure où leurs besoins ont été étudiés, les Champignons des mycorrhizes paraissent fort exigeants. Les Basidiomycètes des mycorrhizes ectotrophes réclament des vitamines du groupe B, très généralement l'aneurine, parfois biotine, acide pantothénique, acide nicotinique, inositol. Mais les vitamines connues ne suffisent pas à assurer leur croissance optimale et d'autres facteurs stimulants, non identifiés, existent dans les exsudats de plantules, les extraits de litières fraîches, l'extrait de Levure (MELIN, 1946). Certaines espèces exigeantes (*Russula xerampelina*) ne croissent même qu'en présence d'une racine-hôte.

Enfin les *Endogone* se cultivent très mal *in vitro*, ou même pas du tout, ce qui dénote des exigences étroites (HARLEY, 1965).

EN RÉSUMÉ, les Champignons des mycorrhizes reçoivent de leur hôte des aliments carbonés, comme l'ont prouvé MELIN et NILSSON, grâce à l'emploi du ^{14}C , ainsi que des facteurs de croissance essentiels. En outre, une fois qu'ils sont installés dans la racine, ou même à sa surface, ils se trouvent en position privilégiée, en quelque sorte à la source des aliments et à l'abri des compétiteurs ou des antagonistes du sol.

2° Ce que reçoit la plante

a) *Mycorrhizes ectotrophes*. — 1° Une capacité accrue d'exploitation du sol.

— Les hyphes rayonnant du manteau remplacent avec une efficacité très supérieure les poils absorbants dont l'organe infecté est d'ailleurs dépourvu. La plante peut ainsi recevoir de l'eau et des aliments minéraux ou peut-être organiques et c'est pour elle un avantage déterminant dans le cas où le sol est pauvre. Grâce à l'emploi d'éléments marqués, les écoles de MELIN et de HARLEY ont prouvé que l'N des sels d'ammonium ou des acides aminés, le Ca, le K, le Na pouvaient être transportés jusqu'à la plante. Quant au P, 10 % des quantités absorbées sont transférées à l'hôte et 90 % subsistent dans le manteau, mais sous une forme facilement disponible. A cela s'ajoute que les Champignons des mycorrhizes pourraient, comme bien d'autres micro-organismes, mobiliser les combinaisons insolubles (phosphates de fer, apatite).

L'absorption d'une plantule mycorrhizée, comparée à celle d'un individu non infecté, est supérieure de 75 % pour le K, 86 % pour l'N, plus de 200 % pour le P. Mais, dans la nature, de telles augmentations peuvent être réduites par la compétition pour les aliments exercée par la microflore libre.

2° **Production de substances de croissance**. — Certains Champignons des mycorrhizes ectotrophes (certains Bolets) produisent des substances auxiniques (AIA et autres dérivés indoliques), au moins à partir du tryptophane. Ceci pourrait expliquer les déformations montrées par les racines courtes, bien que l'on en puisse observer indépendamment de toute infection. Par contre, les racines courtes envahies restent plus longtemps actives que celles demeurées indemnes, peut-être sous l'influence des auxines du Champignon ou parce que celui-ci détruit des facteurs de vieillissement produits par la plante (HARLEY, 1965). Ainsi le rôle des auxines d'origine fongique dans les mycorrhizes demeure obscur, d'autant plus que certaines espèces en produisent peu et tardivement (ULRICH, 1960). *Rhizopogon roseolus* produit des cytokinines qui provoquent l'hyperthrophie des cellules corticales de la racine et influent sur la division cellulaire (MILLER, 1967).

3° Au voisinage des mycorrhizes, l'équilibre biologique est probablement très différent de ce qu'il est au voisinage d'une racine non infectée : en particulier, la microflore de la rhizosphère semble beaucoup plus nombreuse et posséder une composition particulière et une grande richesse en Bactéries et Actinomycètes. La population de la rhizosphère d'une mycorrhize de *Betula lutea* était 100 fois plus nombreuse que dans le cas d'une racine aseptique (KATZNELSON). Mais ces résultats ne doivent pas faire oublier les activités antibiotiques des Basidiomycètes du sol et de certains Champignons mycorrhiziens (OHARA et HAMADA, 1967).

En outre, la mycorrhization paraît protéger les végétaux contre certaines attaques parasitaires (ZAK, 1964 ; MARX et DAVEY, 1967).

Cas particulier des « Monotropa ». — Ce sont des plantes sans chlorophylle, vivant dans le sous-bois de certaines forêts et dont les racines forment des mycorrhizes ectotrophes. Or le Champignon auquel elles sont associées n'est autre que le symbiote des racines des Pins, des Epicéas, des Hêtres du voisinage. En utilisant le ^{14}C , on a montré que le mycélium s'étendant ainsi des racines de l'arbre à celles de *Monotropa* transférait à cette dernière une partie des produits de la photosynthèse de son premier hôte.

b) Mycorrhizes endotrophes. — Nous ne nous étendrons pas ici sur les relations complexes existant entre les Orchidées et leurs endophytes ; c'est une question qui dépasse le cadre de cet ouvrage et nous nous limiterons à ce que l'on sait des complexes à mycélium vésiculo-arbusculaire, fréquents notamment chez les plantes de grande culture.

Les mycorrhizes endotrophes ont été interprétées parfois comme les manifestations d'un parasitisme latent (dissymbiose) pouvant devenir détrimentiel si l'infection est massive. Des travaux suffisamment nombreux prouvent aujourd'hui qu'elles sont au contraire souvent bénéfiques.

1° Comme dans le cas des complexes ectotrophes, les hyphes rayonnant à partir des racines accroissent les surfaces absorbantes de la plante qui reçoit notamment plus de P. En outre les *Endogone* sont, eux aussi, capables de mobiliser les phosphates insolubles (cf., par exemple, DAFT et NICOLSON, 1966) (tableau XCIV).

2° On a pensé aussi que des substances de croissance étaient élaborées par les mycorrhizes endotrophes. En tout cas, les plantes sont d'autant plus vigoureuses et ont une croissance en longueur et en poids d'autant meilleure qu'elles sont plus infectées.

TABLEAU XCIV. — INFLUENCE DES MYCORRHIZES ENDOTROPHES
SUR LA CROISSANCE ET L'ABSORPTION DU P DE LA POUDRE D'OS PAR UNE VARIÉTÉ DE TOMATE
(d'après DAFT et NICOLSON, 1966)
(T = témoins ; M = inoculés)

(Les poids en italiques sont significativement différents de ceux du témoin correspondant)

DOSE DE P		POIDS (M. S. en g)	P DANS LES RACINES ($\mu\text{M}/100\text{ mg M. S.}$)	P DANS LES FEUILLES ($\mu\text{M}/100\text{ mg M. S.}$)	TAUX D'INFECTION
0,5	T	0,127	2,5	3,9	82
	M	<i>0,383</i>	6,8	5,6	
1	T	0,115	3,6	3,3	77
	M	<i>0,334</i>	9,3	5,4	
2	T	0,355	2,6	1,8	64
	M	<i>0,483</i>	14,0	3,7	

3° On a suggéré — mais il s'agit ici d'hypothèses — que les lipides accumulés dans les vésicules pourraient être transférés à l'hôte par lyse du Champignon et incorporés à ses réserves. On a même envisagé la production de substances utilisées par les Graminées pour le développement de leurs organes reproducteurs.

Quoi qu'il en soit, l'effet stimulant exercé par divers Champignons isolés des mycorrhizes ou de la rhizosphère peut conditionner le succès de certaines plantes pionnières (*Tussilago*, *Senecio*) colonisant des sols minéraux pauvres. Cet effet paraît lié à un facteur thermolabile non identifié (G. STEVENSON, 1964).

III. — ÉCOLOGIE DES MYCORRHIZES

La mycorrhization est sous la dépendance de nombreux facteurs. Se produisant dans le sol, elle est influencée, comme les autres processus biologiques, par les caractéristiques physiques et chimiques de celui-ci, ainsi que par la nature de la végétation qu'il porte. En outre, elle est sous la dépendance de l'agressivité du Champignon et de la résistance ou de la sensibilité de la plante. Nous retrouvons ainsi des problèmes que nous avons déjà envisagés en étudiant la nodulation chez les Légumineuses et chez les autres végétaux. Mais les renseignements dont nous disposons ici sont encore peu nombreux et nous en ferons le point au dernier paragraphe de ce chapitre, en étudiant la question des inoculations artificielles.

1° Les facteurs édaphiques

a) **Aération.** — La mycorrhization n'est généralement satisfaisante que dans les sols bien aérés dont l'atmosphère renferme une proportion d'oxygène proche de la normale, soit environ 21 %.

Dans les sols saturés, elle ne se produit généralement pas, qu'il s'agisse de complexes endotrophes ou ectotrophes. Ainsi, sauf exception, les hydrophytes et même les hygrophytes ne sont pas mycorrhizées dans leur milieu naturel ; mais si on les cultive sur un sol convenablement drainé, simplement humide, elles sont infectées (Riz, *Phragmites*, *Marsilea*). Inversement, une plante normalement mycorrhizée ne l'est pas si on la cultive sur sol saturé.

Pour les mycorrhizes ectotrophes, on les rencontre surtout dans les horizons superficiels, sous la litière, et leur nombre diminue quand la profondeur augmente, de sorte qu'elles deviennent exceptionnelles au-dessous de 1,50 m. On en a pourtant trouvé chez le Hêtre jusqu'à 2,60 m. Mais en fait, l'influence de la profondeur ne se ramène pas au seul effet de l'aération, comme nous le verrons en étudiant l'influence des matières organiques.

Cependant, on rencontre des plantes mycorrhizées dans quelques types de sols extrêmement humides et mal aérés : c'est le cas des halophytes, dont certaines (*Aster tripolium*) sont régulièrement infectées dans les vases des slikkes, c'est-à-dire dans un milieu nettement réducteur. Pour essayer d'expliquer ce phénomène, on a parlé de sécheresse physiologique de la vase, en relation avec sa salinité élevée ; en fait la physiologie des halophytes est très particulière comme le sont probablement leurs symbiotes. En effet, ces derniers paraissent bien être des formes spécialisées, propres aux sols salés et humides (BOULLARD, 1964).

De même, la végétation des tourbières semble largement mycorrhizée malgré l'humidité apparemment élevée du milieu. Il faut remarquer cependant que la structure de celui-ci permet un drainage rapide et une aération appréciable. En outre, la tourbe est fortement hygroscopique et des teneurs considérables en eau peuvent correspondre à des humidités relatives modérées.

b) Humidité. — Les mycorrhizes ectotrophes sont favorisées par une pluviosité assez élevée et, sur certains sols à texture grossière, une sécheresse estivale prolongée peut entraîner leur mort. Ainsi, dans certaines régions du Canada, voici quelques années, on a attribué à des étés extrêmement secs un défaut de mycorrhization du Bouleau accompagné d'un dépérissement grave. Il n'en reste pas moins que des mycorrhizes ont été rencontrées dans des sols très secs.

De plus, les agents des mycorrhizes ectotrophes diffèrent, pour une même essence, suivant l'humidité du milieu : dans les sols plus humides, les Champignons à mycélium hyalin sont favorisés aux dépens des mycorrhizes noires à *Cenococcum graniforme*. Le développement de celui-ci est stimulé par des phénomènes de dessiccation périodique et il joue alors un rôle important dans la formation du mor. Mais il peut aussi arriver que les mycorrhizes noires abondent dans un sol bien pourvu en eau.

La formation des complexes endotrophes chez les Céréales est favorisée par des humidités de 60, 80, voire même 100 % de la capacité de rétention, suivant les espèces cultivées.

Enfin l'humidité pourrait influencer sur l'équilibre hôte-symbiote et modifier leurs relations. Ainsi, on isole souvent des racines à mycorrhizes endotrophes des *Fusarium*. Ce sont des habitants fréquents du rhizoplan et leur aptitude à former de véritables mycorrhizes est, en général, mise en doute. Cependant, dans les chernozems comme dans les sols sablonneux, les *Fusarium* se montrent stimulants lorsqu'ils s'associent aux Blés dur et tendre, dans des conditions d'humidité faible (45 % c.r.) alors qu'ils deviennent parasites pour des teneurs en eau de 80 % (c.r.).

c) pH. — Il est courant de dire que la mycorrhization est meilleure dans les sols légèrement acides qui conviennent mieux aux Champignons parce qu'ils sont moins favorables à la population bactérienne.

En effet, les mycorrhizes ectotrophes se rencontrent surtout dans les sols forestiers de pH inférieur à 6,0, ce qui d'ailleurs est un cas fréquent, même sur roche mère calcaire. De même, l'infection du Dactyle ou de la Fétuque est favorisée par l'acidité du

sol alors que les Graminées sont plus rarement mycorrhizées dans les pelouses calcaires. *In vitro*, les Champignons mycorrhiziens (ectotrophes) poussent de pH 3,0 à pH 7,5 avec un optimum entre pH 5,0 et pH 6,0.

Mais c'est là une indication de tendance et non une règle stricte : *Sesleria coerulea* et *Brachypodium pinnatum* sont infectés dans leur habitat naturel de pH élevé. La répartition des carpophores des Basidiomycètes mycorrhiziens prouve que ces Champignons sont au moins aussi nombreux dans les sols de pH 6,4-7,6 que dans ceux de pH 3,8-4,4. On en rencontre encore à pH 8,0 et Russules et Lactaires sont communs dans nos pinèdes sur calcaire. La mycorrhization réduite des Pins sur sol neutre ou basique peut s'expliquer, moins par l'influence du pH, que par l'effet dépressif dû, soit à une nitrification intense, soit à des déséquilibres alimentaires occasionnés chez la plante (chlorose). La formation des complexes est satisfaisante, même à pH élevé (7,5), si le niveau des nitrates est assez bas ou si les carences sont compensées par des traitements convenables (fer complexé). Le pH et la teneur en CaCO_3 des dunes ont peu d'importance pour la mycorrhization endotrophe (NICOLSON, 1960).

Les différentes valeurs du pH influent par contre sur la nature des Champignons symbiotes et sur le type de mycorrhizes formées. Dans le cas des arbres, un pH élevé, ainsi que le chaulage, favorise la pénétration du mycélium et la formation de complexes ectendotrophes. Ainsi, en pots de sol non stérile, MIKOLA (1965) obtient la mycorrhization du Pin de pH 3,9 à pH 7,7 mais, à partir de pH 5,5, le type ectendotrophe devient dominant, comme il l'était d'ailleurs dans les pépinières installées sur d'anciens sols agricoles. Aussi, après repiquage en forêt, sur sol plus acide, les mycorrhizes des jeunes plants sont-elles remplacées par des complexes ectotrophes typiques.

d) Température. — Les températures cardinales varient suivant les espèces et même les souches : l'optimum pour la croissance des Hyménomycètes des régions tempérées se situe, *in vitro*, aux environs de 20 °C ; mais les Champignons isolés des hautes altitudes pourraient croître encore au-dessous de 0 °C, ce qui est évidemment fort important pour la mycorrhization dans les forêts de montagne (MOSER, 1959).

Une élévation marquée de la température du sol, par exemple au cours des feux ou même simplement lorsque les humus sombres sont exposés à une insolation directe et intense, entraîne une diminution de la mycorrhization. Aussi convient-il dans les jeunes plantations de ne pas supprimer toute couverture du sol.

e) Saison. — Son influence n'est peut-être pas limitée à celle d'une simple combinaison de facteurs externes primaires. Il semble qu'il existe, chez certains Champignons, un rythme annuel de croissance, observable même dans des conditions d'environnement constantes, au laboratoire, et montrant un optimum de fin décembre à fin mai.

De même, les mycorrhizes vésiculo-arbusculaires se forment à des périodes différentes suivant les hôtes, ce qui correspond peut-être à des fluctuations saisonnières dans la sensibilité de ceux-ci.

OTTO (1962) constate que les mycorrhizes endotrophes se développent activement en été et régressent, à partir de l'automne, en passant dans une phase inactive de digestion.

f) **Lumière.** — On a vu que la symbiose entre *Rhizobium* et Légumineuses était sous la dépendance de l'éclairement, condition d'une photosynthèse active fournissant aux micro-organismes associés les sucres qu'ils exigent.

Il en va de même ici : l'étiollement de la plante diminue son taux d'infection et l'on aboutit à un résultat semblable si l'on pratique une incision annulaire à la base de la tige, de manière à réduire le flux de la sève élaborée. La mycorrhization n'a pas lieu si l'intensité lumineuse à laquelle l'hôte est soumis est inférieure à une certaine valeur seuil. Elle devient de plus en plus intense quand l'éclairement s'élève au-dessus de ce minimum, jusqu'à une certaine valeur optimale à partir de laquelle elle diminue. Ainsi, pour le Pin, l'intensité lumineuse minimale est de 6 % et à 23 % la mycorrhization est intense. Il est probable que ces valeurs cardinales varient suivant les exigences des différentes espèces-hôtes : ainsi les plantes croissant dans les sous-bois obscurs sont abondamment mycorrhizées.

De même que l'humidité, l'éclairement contribue à déterminer la nature des Champignons participant aux complexes ectotrophes ; ainsi *Cenococcum graniforme* est particulièrement fréquent sur le Hêtre aux faibles intensités lumineuses.

La photopériode joue un rôle comparable à celui de l'intensité lumineuse. La mycorrhization du Pin est nulle pour des durées quotidiennes d'éclairement de 8 h ; elle est moyenne à 12 h, optimale à 16 h, puis elle diminue légèrement en jour continu ou presque (20-24 h) (BOULLARD, 1961).

Ces remarques peuvent recevoir des applications pratiques ; ainsi, au Maroc, l'éclaircie des cédraies trop denses ou des forêts obscures d'Yeuse permet la mycorrhization et la régénération du Cèdre (LEPOUTRE, 1963).

L'influence de la lumière s'explique facilement si l'on admet la théorie de BJÖRKMANN suivant laquelle la formation des mycorrhizes est sous la dépendance du taux de glucides des racines, c'est-à-dire de l'activité photosynthétique de l'hôte. Nous verrons plus loin que cette explication appelle quelques réserves ; il n'en reste pas moins que le Champignon bénéficie de cette activité et que son mycélium accumule des substances réductrices (HANDLEY et SANDERS, 1962).

g) **Texture du sol.** — Dans la nature, les sables sont peu favorables à la formation des mycorrhizes aussi bien ectotrophes qu'endotrophes : celles-ci sont au contraire plus nombreuses si la teneur en colloïdes est assez élevée. En culture sur sable, on constate que l'équilibre symbiotique du Pin et du Champignon est altéré, ce dernier pénétrant plus profondément dans la racine que si l'on avait utilisé une terre normale.

h) **Éléments minéraux.** — En culture pure, les Champignons des mycorrhizes ectotrophes, comme bon nombre de Basidiomycètes, utilisent mal les nitrates et préfèrent les sels d'ammonium et certaines sources organiques d'N (peptone, hydrolysats de caséine, certains acides aminés).

Dans la nature, la richesse du sol est défavorable à la formation des complexes ectotrophes aussi bien qu'endotrophes et des fumures trop généreuses ont un effet analogue.

TABLEAU XCV. — INFLUENCE DE LA FUMURE SUR LA MYCORRHIZATION
(d'après BJÖRKMAN, 1942, simplifié)

TRAITEMENT	HUMUS BRUT		MULL SOUS HÊTRE	
	<i>N minéral en fin d'expérience</i>	<i>Racines mycorrhizées %</i>	<i>N minéral en fin d'expérience</i>	<i>Racines mycorrhizées %</i>
Témoin	24	35	38	20
NPK	268	1	342	1
PK	24	28	20	25
NK	255	17	362	1
K	28	40	22	30
NP	292	1	345	1

L'influence de l'N est particulièrement nette et a été maintes fois signalée chez les arbres forestiers (tableau XCV). Elle se retrouve chez *Calluna vulgaris* (RAYNER), et plus généralement chez les Ericacées, chez les mycorrhizes à *Endogone* des Trèfles, chez le Maïs, le Sorgho. En forêt, 5 à 20 tonnes de sulfate d'ammoniaque par hectare et par an réduisent la mycorrhization sans toutefois la supprimer entièrement. Aussi les mycorrhizes sont-elles surtout développées dans les sols où la minéralisation de l'N et, en particulier, la nitrification sont lentes.

D'autre part, la richesse en N contribue sans doute à déterminer la nature des Champignons participant aux complexes mycorrhiziens.

Le P a parfois un effet favorable : ainsi l'intensité de la mycorrhization endotrophe chez le Pommier est en corrélation directe avec la teneur en P du sol (OTTO, 1962). Mais il ne faut pas généraliser et un excès de P peut être nuisible. Enfin l'action du K est moins nette.

Ainsi une déficience en éléments minéraux ou un déséquilibre alimentaire apparaissent souvent comme des facteurs prédisposant à la mycorrhization : pour le Hêtre, elle est fréquente dans les sols à faible teneur en Ca et K, pas trop riches en P, mais bien pourvus en Fe^{++} ; elle est plus rare sur les sols mieux équilibrés. Mais, en milieu pauvre, les éléments minéraux peuvent aussi être limitants, en particulier le P, indispensable aux activités photosynthétiques.

Au laboratoire, un milieu riche en N semble interrompre l'association symbiotique chez *Pinus strobus* et les mycorrhizes préexistantes se transforment en racines longues. On peut donc supposer avec SLANKIS (1967) que les organes de l'hôte disposent d'un mécanisme de défense réprimant le Champignon. Celui-ci ne pourrait s'installer que si les conditions de nutrition, notamment en N, sont suboptimales. DUMBROFF (1968) arrive à des conclusions un peu différentes : la mycorrhization n'est pas empêchée même si la concentration en aliments est dans le domaine correspondant à des consommations de luxe. Une nutrition optimale ou même excessive n'entraîne qu'une diminution du phénomène.

Dans la pratique forestière, une bonne fumure peut être avantageuse, mais il n'est pas souhaitable que son niveau freine la mycorrhization, ce qui exigerait des fertilisations périodiques.

L'influence des éléments mineurs a été peu étudiée ; cependant MOSER (1959) signale que le B, utilisé pour améliorer la résistance au froid des jeunes plants, est nuisible aux inoculations artificielles.

i) **La matière organique.** — C'est probablement un des facteurs les plus importants pour la formation des mycorrhizes ectotrophes comme endotrophes, quoique nous soyons moins bien renseignés sur le comportement de ces dernières.

La formation des complexes chez les Graminées est sous la dépendance de la teneur en matière organique fraîche ou peu transformée, aussi bien dans les champs (WINTER) que dans les dunes. Chez ces dernières, la première condition de la mycorrhization est une stabilité suffisante de la flore et du sable. Les racines fournissent alors assez de matière organique fraîche pour que des complexes se forment dès le stade pionnier tandis qu'ils sont très rares dans l'*Ammophiletum* sur dune mobile. Mais ils sont aussi moins nombreux dans les vieilles formations à humus évolué que dans les associations de la dune récemment fixée (NICOLSON, 1960). En dehors des Graminées, BOULLARD (1964) considère la matière organique comme de peu d'importance dans le cas des formations halophiles et cependant ces dernières renferment des quantités notables de débris peu décomposés (10-15 %). PEUSS constate aussi l'influence de la matière organique sur la mycorrhization du Tabac.

Dans les sols forestiers, les mycorrhizes ectotrophes sont surtout nombreuses dans les horizons organiques sous la litière et sont moins développées, même à pH égal, dans le mull, trop riche et dont l'humus est très évolué, que dans le mor, plus pauvre et dont la matière organique est moins transformée. Ainsi aux Etats-Unis toutes les espèces accompagnant le Pin Weymouth, et croissant par conséquent dans des sols à humus brut, sont mycorrhisées (mycorrhizes endotrophes) à des pH variant entre 4,6 et 6,2. Le type d'humus et les conditions trophiques apparaissent donc comme plus importantes que le pH.

Le rôle de la matière organique apparaît encore dans l'influence remarquable exercée sur la mycorrhization par les débris ligneux en décomposition. L'exemple cité par DIMBLEBY est classique : en Angleterre, la régénération du Bouleau, dans les landes, se fait souvent par taches où les jeunes individus sont disposés en files rayonnant autour d'un centre ; ceci correspond à la persistance, dans le sol, des vestiges d'une souche en décomposition depuis, parfois, plus de 100 ans. Au niveau de cet humus particulier, les graines germent bien et la mycorrhization est intense. De même, dans les horizons minéraux, défavorables, des mycorrhizes se forment en grand nombre au niveau des vieilles racines pourrissantes ; en Suède on les rencontre sur les sols neutres couverts d'une strate herbacée développée, là où les racines s'enfoncent dans les bois pourris. La régénération, si difficile dans les landes à Callune, se produit à l'emplacement d'anciens tas de sciure et cette dernière est encore capable de corriger la toxicité de certains traitements pesticides.

j) **Traitements pesticides.** — On a surtout étudié leur influence sur les Champignons des mycorrhizes ectotrophes et ces derniers se montrent plus sensibles que les espèces saprophytes.

Certaines substances sont considérées comme peu dangereuses (D.D. ⁽¹⁾), dibromoéthylène, Némagon) bien qu'elles ne soient pas toujours inoffensives (AFSCHARPOUR et coll., 1967). D'autres (chloropicrine, bromure de méthylène) n'ont pas d'effet nuisible l'année de leur application mais ont ensuite une action défavorable sur la mycorrhization et la vigueur des jeunes arbres. Les débroussaillants provoquent une raréfaction et une malformation des mycorrhizes. L'hexachlorobenzène, le calomel sont particulièrement dangereux mais chlordane, thiosan, formol, sulfate d'aluminium ne sont pas non plus sans inconvénients. Le rôle de l'actidione est encore discuté. Enfin l'alcool allylique empêche la mycorrhization de façon presque complète et sélectionne *Trichoderma* qui devient prépondérant ; en même temps on observe une stimulation de la croissance de *Pinus radiata*.

2° Influence de la végétation

Les extraits de litières fraîches ont, en général, un effet stimulant sur la croissance des Champignons mycorrhiziens, mais, à concentration assez élevée, ils deviennent plus ou moins vite inhibiteurs (MELIN, 1946). On peut supposer qu'ils contiennent un système stimulant hydrosoluble, comprenant des fractions minérales (Ca^{++}) et organiques, mais que certains renferment en outre un système inhibiteur dialysable, soluble dans l'alcool, insoluble dans l'éther.

Lorsque les litières de résineux ou de feuillus entrent en décomposition, leurs extraits deviennent plus toxiques, probablement par suite de la libération progressive de composés aromatiques qui, par eux-mêmes ou par leurs produits d'oxydation, sont inhibiteurs.

Enfin les extraits d'humus sont également stimulants ou toxiques suivant leur origine et leur concentration.

Le cas le mieux connu est l'influence de *Calluna vulgaris*. Dans les landes à Callune, en Europe, les tentatives de reboisement aboutissent, en général, à un échec total et, seuls, Bouleau, Pin sylvestre et Sorbier se régénèrent faiblement. Ceci paraît lié au fait que les jeunes arbres ne sont pas mycorrhizés et ne peuvent donc se procurer, dans un milieu aussi pauvre, les quantités nécessaires d'aliments indispensables. Cette pauvreté du sol, le pH acide sont favorables à la mycorrhization, mais les extraits d'humus recueilli sous Callune sont toxiques pour les Basidiomycètes symbiotes dépourvus d'activité phénolase ; ils sont tolérés par *Boletus scaber* qui présente au contraire une légère activité oxydase et se trouve être un des rares Champignons mycorrhiziens fructifiant dans ces landes.

(1) Dichloropropane + Dichloropropène.

La toxicité des extraits d'humus dépend du pH : très marquée à pH 3,7, elle s'efface dès pH 5,0 ; le chaulage, un apport d'N, la submersion entraînent une détoxification du sol. On a donc l'impression que les substances inhibitrices sont instables, inactivées à pH élevé ou sous l'action de la microflore ou encore par dilution. La toxicité de l'humus ne pourrait donc être due qu'à une sécrétion continue, par la Callune vivante et vigoureuse, de quantités relativement importantes de substances actives. Les individus vieillissants ou affaiblis par le manque de lumière n'ont plus qu'un effet réduit et même les paillis de Callune, comme ceux de *Pteridium*, favorisent le rétablissement du sol (HANDLEY, 1963). La substance ou les substances actives sont inconnues et l'on ne peut même décider si elles proviennent d'une excrétion radicellaire ou foliaire ni si l'endophyte, mal connu, variable et facultatif, de la Callune participe à leur élaboration.

Il y a là un problème important pour la mise en valeur de landes improductives, problème qui doit pouvoir être résolu par l'élimination de la Callune assez longtemps avant la plantation. Il est probable que cette plante n'est pas la seule à exercer une influence défavorable sur la mycorrhization des arbres forestiers : on a pensé à *Vaccinium myrtillus*, à *Hedera helix*, mais il ne s'agit que d'hypothèses.

L'enrésinement d'anciens sols agricoles ou de prairies est également aléatoire et conduit parfois à des échecs coïncidant avec un défaut de mycorrhization. On peut attribuer ce fait à l'élimination des symbiotes éventuels par des substances toxiques sécrétées par la végétation herbacée, mais la réalité de ces substances reste à démontrer. D'autre part, un ancien sol forestier, replanté 60 ans après avoir été déboisé, permet encore la mycorrhization spontanée des jeunes arbres et celle-ci intervient régulièrement au voisinage proche des bois ou des haies vives. L'inoculation, l'emploi de plants infectés permettent, dans certains cas, le succès de la plantation, mais celui-ci n'est assuré que si la végétation prairiale est éliminée au préalable et il ne s'accompagne pas nécessairement de mycorrhization.

L'influence de la végétation apparaît encore en ce qu'elle détermine la nature des Champignons intéressés à la formation des complexes : ils sont différents en prairie et en forêt et, dans ce dernier cas, ils paraissent aussi varier suivant les associations végétales.

3° Interactions avec la microflore libre

Elles sont sans doute multiples, mais encore bien mal connues. Dans le sol, les Champignons mycorrhiziens sont soumis à des phénomènes de compétition pour les aliments essentiels et peut-être aussi à des actions antibiotiques. Mais ils peuvent aussi recevoir de la microflore une stimulation ou exercer sur celle-ci des effets inhibiteurs.

La quasi-impossibilité où l'on est d'isoler du sol, par les méthodes courantes, les Champignons des mycorrhizes ectotrophes, ainsi que leur faible aptitude compétitive sur les milieux de culture, ont fait dire qu'ils étaient en position d'infériorité vis-à-vis de la microflore libre.

Cependant, on peut mettre leur présence en évidence par une méthode spéciale de piégeage, en plantant dans le sol étudié de jeunes arbres non mycorrhizés. C'est donc

qu'ils subsistent dans certains sols et peuvent même s'y propager. Peut-être se comportent-ils dans la nature comme les autres Hyménomycètes, colonisant des habitats privilégiés, ici les racines vivantes tout au moins, et s'étendant au travers du sol et de son peuplement en direction de nouveaux substrats favorables. Ainsi, associés à leur hôte, y puisant leurs aliments, ils pourraient devenir en partie indifférents aux phénomènes de compétition. On peut même supposer qu'ils soient dominants grâce aux antibiotiques que certains produisent (KRYWOLAP et coll., 1964). Peut-être est-ce là une explication des phénomènes signalés par OHARA et HAMADA (1967) dans les « ronds de sorcière » de *Tricholoma matsutake*.

Les Champignons des mycorrhizes ectotrophes poussent bien sur humus stérilisé et leurs spores germent facilement sur sol partiellement désinfecté par le formol. Au contraire, en présence d'une microflore vigoureuse, il arrive que la mycorrhization ne se produise pas, par exemple après inoculation par une culture pure ou des fragments de carpophores.

On connaît l'action inhibitrice exercée sur certains Champignons mycorrhiziens par *Alternaria tenuis*. Les sols à Callune renferment certains *Penicillium* producteurs d'antibiotiques dont, probablement, la gliotoxine.

Mais nous savons mal dans quelle mesure ces substances inhibitrices sont produites et exercent leur influence dans le sol ni même quel est leur spectre d'activité exact. L'effet inhibiteur de *Gibberella fujikoroï* ne persiste que quelques mois et les antibiotiques de *Boletus* ou de *Cenococcum* paraissent n'agir que sur les Bactéries. Aussi peut-on se demander dans quelle mesure ces phénomènes d'antagonisme correspondent bien à des réalités, dans les conditions naturelles.

A l'opposé de ces actions inhibitrices, il faut rappeler que la germination des spores, chez les Basidiomycètes des mycorrhizes ectotrophes, est favorisée par la présence de certains micro-organismes (*Torulopsis*, *Cladosporium*, *Cenococcum*, etc.), De même la formation des complexes vésiculo-arbusculaires semble conditionnée, *in vitro*, par la présence de certaines Bactéries, *Pseudomonas*, *Bacillus*, etc., qui pourraient macérer les tissus de la plante et les rendre plus pénétrables (MOSSE, 1962).

IV. — COMPORTEMENT DES CHAMPIGNONS MYCORRHIZIENS DANS LE SOL

La contamination des racines d'un jeune arbre peut être assurée à partir de celles d'un individu préexistant et déjà mycorrhizé. C'est, en quelque sorte, le mode naturel de formation des complexes, assurant le maintien régulier de la mycorrhization dans une forêt en équilibre. C'est un mode de transmission analogue à celui que l'on connaît chez divers Champignons parasites : *Clitocybe* (= *Armillaria*) *mellea* ou *Fomes annosus*, par exemple. Il en va de même au voisinage d'une formation arborée ; ainsi des Pins plantés dans une prairie sont mycorrhizés, en quelques mois, jusqu'à une distance

de 6,50 m d'une haie coupe-vent. Les aptitudes des Basidiomycètes à la translocation des réserves sont suffisantes pour que se pose surtout un problème de résistance aux antagonismes éventuels de la microflore.

La contamination peut encore être assurée par les basidiospores libérées par milliards à partir des carpophores des Amanites, des Bolets, des Russules. Très légères, elles peuvent parcourir de grandes distances avant d'atteindre le sol et la seule limite à leur propagation dans l'air est leur vitalité relativement brève. C'est ainsi que des semis de Pin, sur compost stérile, sont retrouvés mycorrhizés après quelques mois d'exposition à l'air libre. Une fois déposées sur le sol, les basidiospores doivent germer, en partie grâce aux actions stimulantes de la microflore et il faut ensuite que leur mycélium atteigne les racines et les infecte. Ce deuxième mode de contamination suppose donc, beaucoup plus que le premier, le développement d'un stade saprophyte : les réserves des spores sont infimes et, à moins que celles tombant à proximité immédiate des racines soient seules efficaces, il faut qu'un mycélium se développe et donc se nourrisse dans le sol.

Effectivement, on a rencontré *C. graniforme* et divers Bolets dans des terres où ne poussait aucune plante capable, semble-t-il, de les héberger. L'existence d'une telle phase saprophyte se comprend aisément dans le cas d'espèces mycorrhiziennes facultatives, comme *Boletus subtomentosus*, susceptibles de vivre activement dans les litières ou les bois pourris. Pour LEVISOHN (1960), *Boletus scaber* ne s'intéresse que tardivement aux racines de Pin si le milieu est assez riche pour répondre à ses besoins.

Quant aux mycorrhizogènes stricts, on peut se demander dans quelle mesure ils sont capables, comme beaucoup de Champignons parasites, de survivre à la mort de leur hôte. Il faut en effet rappeler que *Fomes annosus* peut rayonner à partir de poteaux confectionnés dans un bois contaminé, que l'*Ophiobolus* des céréales, le *Didymella* de la Tomate, pour ne citer que ceux-là, peuvent se conserver dans le sol tant que subsistent les débris pourrissants de leur hôte et bien qu'ils soient tout à fait étrangers à la microflore tellurique. La population saprophyte ne les déloge pas de leur niche écologique même s'ils ne peuvent contaminer de l'extérieur un débris mort : l'organisme installé est en position favorable par rapport à ses concurrents. Est-ce là une explication des observations de DIMBLEBY ou bien correspondent-elles à un effet stimulant des racines mortes et de leur microflore sur la germination de spores apportées par le vent ? Nous ne le savons pas.

Les Rhizoctones, les *Endogone*, *Cenococcum*, sûrement, d'autres probablement aussi, produisent dans le sol des organes de résistance (sclérotés, « spores ») capables de demeurer dormants pendant des années dans l'attente du stimulus que provoque la racine d'un nouvel hôte. Selon PEUSS, l'infection du Tabac se fait à partir de débris de racines infectées, mais plus souvent à partir des « spores » (= vésicules) du sol. Les Champignons des mycorrhizes endotrophes ne peuvent mener d'existence libre dans le sol mais y survivent à l'état dormant, alors que, en association avec leur hôte, ils s'y développent largement et sont, peut-être même, capables de décomposer la matière organique. Pour les *Endogone*, selon HARLEY (1965), la contamination peut être assurée à partir des racines vivantes et infectées ou bien à partir de spores de conservation.

Mais dans le premier cas, la contamination semble beaucoup plus facile, comme si le Champignon nourri par son hôte se montrait plus virulent. Dans le second cas, l'infection est lente et demande la coopération d'autres micro-organismes, incapables de symbiose, mais sensibilisant l'hôte.

Quelle est donc la nature de ce stimulus qui, non seulement active les organes dormants, mais exerce sur les mycéliums une sorte d'attraction les guidant vers la racine compatible ?

Celle-ci sécrète des substances nombreuses et que nous sommes loin d'avoir toutes recensées : sucres, acides aminés, acides organiques, phosphatides, vitamines, etc. Elle modifie le pH du sol à son voisinage proche, elle perd constamment des cellules mortes qui sont autant d'aliments ; elle crée enfin à son voisinage une rhizosphère dont les effets ne doivent pas être sous-estimés. Mais il faut bien reconnaître qu'aucune de ces actions ne paraît assez étroitement sélective pour expliquer l'installation exclusive d'une espèce sur ou dans une racine ; tous les facteurs précédents stimulent également la microflore libre et les sols ne sont pas déficients en vitamines, même en dehors des rhizosphères.

MELIN et RAMA DAS (1954) ont montré que les racines de Pin et d'Épicéa sécrétaient un facteur stimulant pour les agents des mycorrhizes ectotrophes (facteur M), mais il est produit aussi par un certain nombre de plantes incompatibles avec ces Champignons (Tomate, Crucifères, etc.). Quant à la tubercine produite par *Monotropa* et agissant comme le facteur M, elle est moins bien connue.

Ici encore la phytopathologie nous montre des phénomènes analogues : la spécificité parasitaire s'exerce sans doute hors de la plante grâce à des substances biologiquement actives, agissant à dose faible et à caractère non pas stimulant — en règle générale la stimulation n'est pas spécifique — mais toxique, tolérées par les parasites compatibles et freinant les autres espèces. Pourtant, les pathogènes les plus spécifiques germent encore très bien sur les feuilles de certaines plantes qu'ils sont incapables de contaminer et la sélection joue surtout au moment où le parasite doit forcer les défenses de l'hôte. Les excréments radicellaires, les produits élaborés dans la rhizosphère sont peut-être capables de favoriser la germination des spores et l'allongement des mycéliums mycorrhizogènes dans une direction privilégiée ; mais ceux-ci, du fait de la compétition intense régnant dans le sol, demeurent discrets ; qu'ils rencontrent la niche élective qu'est la racine, ils deviennent luxuriants et peuvent repartir en conquérants dans le sol où ils fructifient parfois bien loin de leur hôte.

V. — INOCULATION

Il ne faut pas considérer la mycorrhization comme un facteur déterminant, sans réserve, le succès d'un semis ou d'une plantation. En particulier en sol riche et équilibré, elle peut n'avoir qu'un intérêt réduit. Par contre, dans un sol pauvre, un arbre mycorrhizé peut présenter, par rapport à un individu non contaminé, un avantage considé-

nable, éventuellement décisif pour son avenir. On est alors conduit parfois à envisager l'inoculation artificielle des jeunes individus si le sol utilisé n'héberge pas spontanément les Champignons symbiotes. C'est le cas lorsque semis ou plantation sont effectués sur d'anciens sols agricoles, sur pelouse, parfois même sur lande.

Nous commençons aussi à savoir que les Champignons mycorrhiziens sont inégalement favorables à leur hôte. Par exemple, *Boletus scaber* est médiocrement virulent en milieu riche et son attaque tardive permet la formation de pseudomycorrhizes éventuellement détrimentiellles. *Amanita muscaria* n'améliore pas la nutrition phosphatée du Pin alors que *Boletus luteus* l'accroît nettement. On entrevoit ainsi comment il pourrait être intéressant d'inoculer des souches sélectionnées, choisies pour leur efficacité, leur virulence, leur spécificité, leur adaptation aux conditions locales du sol et du climat. Mais beaucoup reste encore à faire dans cette voie.

Il est recommandé de procéder à l'inoculation artificielle dès le semis ou lors du repiquage en pépinière. Les plants mycorrhizés supportent mieux le transport et s'adaptent mieux après la plantation, même si leur symbiote ne peut se maintenir dans le nouveau sol.

L'inoculation doit être précédée de fumures et d'amendements bien adaptés, puis on procède à l'ensemencement de différentes manières : les inoculums naturels (sols, humus, litières) sont d'un emploi commode et assurent généralement une infection satisfaisante, mais ils peuvent introduire des parasites, des espèces défavorables ou, tout simplement, des symbiotes peu efficaces. Il arrive ainsi que l'inoculation soit nuisible au rendement.

L'emploi d'individus déjà mycorrhizés que l'on plante çà et là dans la pépinière, permet un choix plus précis du Champignon. Il en est de même de l'utilisation de mycorrhizes hachées ou de carpophores, mais l'infection est moins certaine. Quant à l'inoculation de cultures sélectionnées, elle a été soigneusement étudiée par MOSER (1959).

Pour les plantations, on pourra introduire dans la tranchée le sol d'une forêt favorable, mais bien souvent, le travail du sol et une légère fumure suffisent sans que l'inoculation soit nécessaire.

CINQUIÈME PARTIE

**LES INTERACTIONS ENTRE
MICRO-ORGANISMES TELLURIQUES**

Dans cette dernière partie, on traitera des relations des micro-organismes telluriques entre eux. Ces interactions sont d'une très grande complexité. Considérons en effet avec BROCK (1966) le cas de la coexistence de deux micropopulations seulement, que nous désignons par les lettres A et B , et exprimons le système d'interactions entre elles sous la forme $A \rightleftharpoons B$. On sait que l'action d'une micropopulation sur l'autre peut être soit positive (synergie), soit négative (antagonisme), soit nulle (neutralité). Comme dans le système $A \rightleftharpoons B$ chaque flèche peut symboliser un effet positif, négatif ou nul, il peut apparaître neuf types d'interactions qualitativement différentes. Si au lieu de deux micropopulations on en considère trois : A, B, C , la complexité des interactions s'accroît considérablement. En effet, il apparaît d'une part des interactions entre chacune des trois micropopulations, prises deux à deux :

$$A \rightleftharpoons B \quad B \rightleftharpoons C \quad C \rightleftharpoons A$$

et d'autre part, des interactions entre chacun de ces couples (par ex. : $A \rightleftharpoons B$) et la troisième micropopulation (par ex. : C).

L'on pourrait, dans ces conditions, être amené à penser que le problème des interactions entre micro-organismes telluriques est insoluble. En fait, BROCK (1966) considère qu'il y a lieu d'être moins pessimiste, car « au fur et à mesure que le nombre des micro-organismes en présence augmente, les chances pour un micro-organisme donné d'affecter profondément la croissance d'un autre diminuent, car la probabilité d'interaction efficace entre ces deux micro-organismes est plus faible ». On notera en outre que, dans le sol, le cloisonnement en microhabitats intervient certainement en limitant les possibilités d'interaction.

Nos connaissances actuelles sur les interactions entre micro-organismes telluriques sont encore trop sommaires pour qu'il soit possible d'énoncer les grands principes qui régissent l'équilibre biologique dans le sol ; on n'a guère dépassé le stade de l'étude *in vitro* de modèles simplifiés portant sur des associations synergiques ou antagonistes. Certains résultats laissent pourtant entrevoir la possibilité de maîtriser un jour l'équilibre biologique des sols pour l'orienter dans la direction la plus propice au développement des plantes.

Les deux premiers chapitres de cette dernière partie seront consacrés aux interactions de nature synergique ou antagoniste entre les divers éléments de la microflore ; le troisième chapitre traitera des interactions entre la microflore et la microfaune. On donnera enfin quelques précisions sur le problème de la succession des vagues microbiennes dans l'espace et dans le temps, et sur celui des groupes microfloristiques dans les sols.

CHAPITRE PREMIER

LES ASSOCIATIONS SYNERGIQUES ENTRE LES DIVERS ÉLÉMENTS DE LA MICROFLORE

A. — GÉNÉRALITÉS.

PRINCIPAUX MODES D'ASSOCIATIONS SYNERGIQUES

Les associations synergiques entre les micro-organismes telluriques présentent toute une série de formes allant du *commensalisme* à la *symbiose nutritionnelle*.

La symbiose *sensu stricto* occupe une place à part : nous citerons simplement ici, pour mémoire, l'exemple classique de la symbiose lichénique, association entre Algues et Champignons ainsi que l'exemple moins connu de la symbiose entre un Infusoire, *Spirostomum teres*, et une Thiorhodacée, vraisemblablement *Chromatium vinosum*, vivant et se multipliant dans la cellule du Protozoaire (fig. 174).

Le *commensalisme* est un type d'interaction très lâche, n'offrant, contrairement à la symbiose vraie, aucun caractère obligatoire ; dans le commensalisme, une seule des espèces impliquées tire bénéfice de l'association. Sur un substrat de cellulose, les liens qui unissent l'*Azotobacter* et les Corynébactéries cellulolytiques sont de ce type : les Corynébactéries rendent le substrat assimilable pour les micro-organismes fixateurs d'azote en le dégradant jusqu'au stade acides organiques. Un autre exemple de commensalisme, dû à SHINDALA et ses collaborateurs (1965), concerne l'équilibre entre *Saccharomyces cerevisiae* et *Proteus vulgaris*, ce dernier micro-organisme, bénéficiant de la synthèse par la Levure d'une substance vitaminique indispensable du type niacine. On notera que, pour mener à bien leur travail, SHINDALA et ses collaborateurs ont fait appel à la méthode des cultures continues, méthode qui est certainement appelée à un grand avenir pour résoudre les problèmes posés par les interactions de toutes sortes entre les micro-organismes se développant en culture mixte (MALEK et RICICA, 1968).

La *symbiose nutritionnelle* (cross-feeding ou mutual feeding) est un type d'association beaucoup plus étroit, dans lequel chacun des deux micro-organismes impliqués tire un bénéfice indiscutable ; cette association diffère de la symbiose *sensu stricto* par le fait qu'elle n'est pas obligatoire. L'association entre *Mucor ramannianus* et *Rhodotorula*

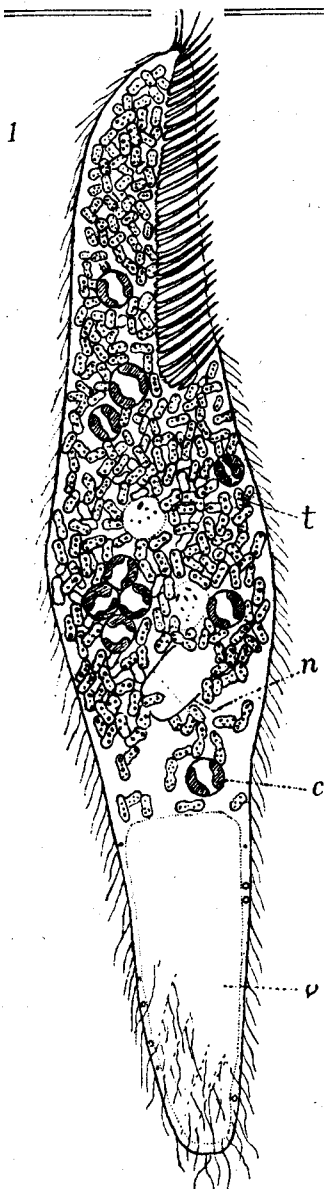


FIG. 174. — Symbiose entre un Infusoire (*Spirostomum teres*) et une Thiorhodacée (G. MANGENOT, 1934). v, vacuole pulsatile ; c, chlorelle ; n, noyau ; t, cellules de Thiorhodacée ayant envahi l'Infusoire.

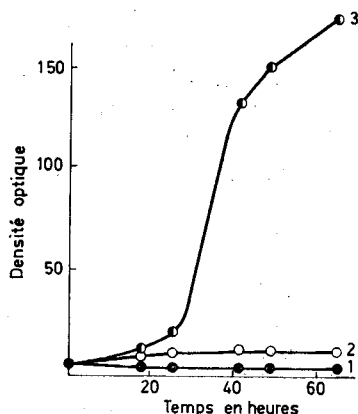
rubra répond à cette définition. Ces deux micro-organismes ne peuvent se développer séparément qu'en présence de thiamine (vitamine B₁) ; mais cultivés ensemble, ils n'en ont pas besoin : la Mucorale en effet synthétise une partie de la molécule de thiamine (le noyau thiazole) alors que la Levure synthétise l'autre moitié (le noyau pyrimidine), de sorte que l'apport de thiamine au milieu est inutile (MÜLLER et SCHOPFER, 1937). Un autre exemple d'association du même type, dû à NURMIKKO (1956), est celle qui s'établit entre *Lactobacillus arabinosus* 17-5 et *Streptococcus faecalis* dans un milieu dépourvu de phénylalanine (indispensable à *L. arabinosus*) et d'acide folique (indispensable à *S. faecalis*), car chaque micro-organisme synthétise et excrète des quantités suffisantes du facteur nécessaire à la croissance de l'autre (fig. 175).

En fait, il est souvent très difficile de classer les interactions synergiques sur la base des bénéfices mutuels que les micro-organismes peuvent en retirer et de les répartir soit dans la catégorie des associations commensales, soit dans la catégorie des symbioses nutritionnelles. Il apparaît préférable de les définir par leur mode d'action comme le proposent POCHON et DE BARJAC (1958). En se fondant sur ce critère, on peut alors distinguer :

- les associations impliquant une modification du milieu physique ou physico-chimique ;
- les associations impliquant une modification du substrat nutritif ;
- les associations impliquant l'inactivation de substances toxiques ;
- les associations impliquant l'intervention de substances probiotiques.

a) On sait que certains micro-organismes peuvent modifier la teneur de l'atmosphère du sol en O₂ et CO₂, le pH, le Eh, la structure et même la température. Ces modifications, qui sont souvent très sensibles au niveau du microhabitat, peuvent être favorables à d'autres micro-organismes. Dès 1864, PASTEUR décela une interaction de ce type entre les Bactéries aérobies et anaérobies, les premières favorisant les secondes en réduisant la teneur du milieu en oxygène.

FIG. 175. — Association synergique entre *Lactobacillus arabinosus* et *Streptococcus faecalis* (NURMIKKO, 1956).
 Courbe 1, *S. faecalis* (souche exigeant l'acide folique);
 courbe 2, *L. arabinosus* (souche exigeant la phénylalanine); courbe 3, culture mixte.



Dans certains cas, l'association entre un micro-organisme aérobie et un micro-organisme anaérobie est fondée sur le fait que le premier fournit au second une catalase ou une peroxydase, qui empêche l'accumulation de peroxydes toxiques dans le milieu (CASIDA, 1968).

b) Un deuxième type d'association est fondé sur la dégradation par un micro-organisme d'un substrat jusqu'à un stade auquel il devient assimilable par un autre micro-organisme. L'exemple donné plus haut de l'association entre les *Azotobacter* et des micro-organismes cellulolytiques répond à cette définition ;

c) La protection d'un micro-organisme par un autre contre l'action toxique de certains agents chimiques, tels que substances phénoliques, composés mercuriques, antibiotiques, constitue un troisième type d'interactions synergiques assez fréquent. L'effet protecteur résulte de mécanismes parfois difficiles à élucider (STUTZENBERGER et BENNETT, 1965). Le plus simple consiste dans la baisse de la concentration du milieu en substance toxique par suite de la biodégradation ou de l'absorption sans métabolisation de cette substance par un des micro-organismes de l'association ; il est possible aussi qu'un des membres de l'association synthétise et excrete des substances protectrices (BEAN et WALTERS, 1955).

d) Par *substances probiotiques* (LILLY et STILLWELL, 1965) ou *biotiques* (KRASILNIKOV, 1958), on entend des substances d'origine microbienne qui ont la propriété de stimuler la croissance des micro-organismes ou d'autres cellules vivantes. Rentrent dans la catégorie des probiotiques, les acides aminés, vitamines, auxines, gibbérellines et de nombreux autres facteurs de croissance, de composition connue ou inconnue. Comme les antibiotiques, les probiotiques présentent un spectre d'activité caractéristique et sont actifs à de faibles concentrations (PRAMER, 1968). Les associations impliquant l'intervention de substances probiotiques sont très fréquentes dans le sol. Elles y jouent vraisemblablement un rôle très important car la proportion des micro-organismes telluriques ayant des besoins nutritionnels complexes est étonnamment élevée. Dans un sol canadien, LOCHHEAD et BURTON (1957) ont évalué à 27 % la proportion des Bactéries

exigeant une ou plusieurs vitamines : thiamine, biotine, vitamine B₁₂, acide panto-thénique, acide folique, acide nicotinique essentiellement. Examinant huit micro-populations de podzols tourbeux de Grande-Bretagne, HOLDING et ses collaborateurs (1965) ont estimé que 80 % des Bactéries exigeaient pour leur croissance les facteurs contenus dans l'extrait de Levure, les micro-organismes se contentant d'azote minéral ne représentant que 5 % de la microflore totale. Cette abondance extraordinaire des micro-organismes exigeants sur le plan nutritionnel ne peut s'expliquer que par la présence dans le sol de vitamines et facteurs de croissance ; l'origine de ces substances est essentiellement microbienne car celles qui sont d'origine végétale sont vraisemblablement détruites au cours de la décomposition des résidus de plantes. En fait, de très nombreux micro-organismes telluriques synthétisent les acides aminés et des vitamines (un seul micro-organisme pouvant synthétiser plusieurs vitamines).

Pour des raisons de commodité, nous adopterons ici une classification des associations fondée sur leur activité physiologique (associations synergiques fixatrices d'azote, associations cellulolytiques, par exemple) ou leur composition microfloristique (association entre Algues et Bactéries, par exemple).

B. — ASSOCIATIONS SYNERGIQUES FIXATRICES D'AZOTE

De nombreuses associations ont été mises en évidence entre les micro-organismes fixateurs d'azote moléculaire (*Azotobacter*, *Clostridium*, *Beijerinckia* et Algues) et divers micro-organismes non fixateurs (Bactéries, Actinomycètes, Champignons, Levures, Algues, Protozoaires). Ces associations jouent certainement un rôle important dans la fixation de l'azote *in situ* (PETERSEN et HOLM, 1964). La liste d'exemples que nous donnons ci-dessous est loin d'être exhaustive, mais donne une vue d'ensemble de l'étendue du problème.

1° Associations avec des Bactéries ou des Actinomycètes

On a démontré l'existence d'associations synergiques entre les *Azotobacter* et des micro-organismes cellulolytiques appartenant en particulier aux genres *Cellulomonas* et *Cytophaga* (JENSEN, 1941) et entre des *Azotobacter* et des Bactéries rétinolytiques dont *Flavobacterium resinivorum* (DASTE, 1958).

De très nombreuses autres espèces bactériennes pourraient aussi stimuler la croissance et la fixation d'azote par l'*Azotobacter* : *Bacillus megaterium*, *Achromobacter* sp., *Lactobacillus plantarum* et *L. buchneri*. Il en serait de même pour certains Actinomycètes : *Actinomyces longisporus*, *Actinomyces albus* et *Actinomyces flavus* (RUBEN-CHIK, 1960).

Les *Clostridium* vivent souvent en association avec des Bactéries cellulolytiques (*Cellvibrio*, *Corynebacterium*) et des Actinomycètes (JENSEN, 1941).

Les associations entre une Bactérie photosynthétique fixatrice d'azote moléculaire, *Rhodopseudomonas capsulatus*, et diverses autres Bactéries ont été particulièrement bien étudiées par OKUDA et ses collaborateurs (OKUDA et coll., 1961 ; KOBAYASHI et coll., 1965). Nous en donnerons ici deux exemples :

a) Association entre *R. capsulatus* et une autre Bactérie fixatrice d'azote : *Azotobacter vinelandii*. — A la lumière et en association avec *Azotobacter vinelandii*, la fixation d'azote par *Rhodopseudomonas capsulatus* est considérablement accrue et, fait remarquable, elle se manifeste en aérobiose alors que, seul, *R. capsulatus* fixe l'azote en anaérobiose.

Les mécanismes qui interviennent sont complexes. Parmi ceux qui ont été envisagés, citons :

— la fourniture par la Bactérie photosynthétique à l'*Azotobacter* d'hydrates de carbone, et la fourniture par l'*Azotobacter* à la Bactérie photosynthétique d'acides gras à faible poids moléculaire constituant des substrats de choix ;

— l'abaissement par l'*Azotobacter* du potentiel d'oxydo-réduction à proximité des parois cellulaires de *R. capsulatus*, dont l'hydrogénase est ainsi protégée contre l'effet inhibiteur de l'oxygène ;

— la production, dans les cultures mixtes, de substances spécifiques favorisant la fixation d'azote et résultant de l'interaction de produits excrétés dans le milieu par l'une et l'autre Bactérie.

b) Association entre *R. capsulatus* et une Bactérie non fixatrice d'azote : *Bacillus subtilis*. — Cette association peut fixer l'azote sur un substrat composé de glycérol ou d'amidon, pourtant impropre au développement de *R. capsulatus*, car *B. subtilis* dégrade ce substrat à l'état d'acide pyruvique que *R. capsulatus* est capable d'utiliser.

Il peut se présenter des types d'interactions plus complexes ; citons, à titre d'exemple, l'association décrite par NOVOGRUDSKI et KARAGUISHIEVA, cités par RUBENCHIK (1960) entre un *Azotobacter*, des Champignons (*Monotospora*, *Fusarium* et *Cephalosporium*) et des Bactéries mycolytiques. L'*Azotobacter* se multiplie vigoureusement en utilisant les produits résultant de la lyse des mycéliums fongiques sous l'action des Bactéries mycolytiques. Il ne s'agit pas ici d'un système synergique tripartite véritable, mais d'une association synergique entre l'*Azotobacter* et les Bactéries mycolytiques, d'une part, et d'une association antagoniste entre les Bactéries mycolytiques et les Champignons, d'autre part.

2° Associations avec des Champignons ou des Levures

Les associations entre *Clostridium* et Champignons cellulolytiques sont bien connues (JENSEN, 1941 ; RUBENCHIK, 1960).

Les *Levures* stimulent la croissance et le pouvoir fixateur des *Azotobacter*. L'un de nous a découvert récemment dans les sols tropicaux une association fixatrice d'azote très efficace entre des *Beijerinckia* (*B. indica* ou *B. fluminensis*) d'une part et une Levure oligonitrophile (*Lipomyces starkeyi*) d'autre part. La fixation d'azote est considérablement stimulée dans le cas de l'association *Beijerinckia fluminensis* et *Lipomyces starkeyi* (+45 % à +170 %) (DOMMERGUES et MUTAFTSCHIEV, 1965).

3° Associations avec des Algues

On connaît des associations entre Bactéries et Algues ou entre Algues. Des associations de premier type ont été signalées par PERMINOVA (1964), qui a obtenu un accroissement de la densité des *Azotobacter* et *Clostridium* par introduction d'Algues dans le sol. Sur des substrats synthétiques, la fixation d'azote par *Nostoc calcicola* est stimulée lorsque cette Algue est cultivée en association avec des Bactéries (*Bacillus megaterium*, divers *Rhizobium*, *Agrobacterium radiobacter*) ou des Actinomycètes (*Streptomyces albus*) (BJÄLFVE, 1962). Des associations du deuxième type ont été décelées par CAMERON et FULLER (1960) dans les sols à croûtes de l'Arizona où l'Algue *Diclothrix orsiniana* ne fixe l'azote qu'en association avec une autre Algue : *Lyngbya* sp.

4° Associations avec des Protozoaires

Ces associations sont connues depuis assez longtemps. Parmi les travaux les plus récents, citons ceux de MARSZEWSKA-ZIEMIECKA et MALISZEWSKA (1963), NIKOLYUK et MAVLYANOVA (1963) ; ces derniers auteurs, ont non seulement confirmé l'existence de synergies de ce type, mais ont aussi montré que l'irradiation du Protozoaire par les rayons γ peut augmenter l'efficacité de l'association synergique en ce qui concerne son pouvoir fixateur d'azote.

C. — AUTRES ASSOCIATIONS SYNERGIQUES

1° Associations cellulolytiques et associations intervenant dans la dégradation de la matière organique du sol

La dégradation dans le sol de la matière organique fraîche (résidus végétaux notamment) est le fait d'associations synergiques, dont l'efficacité est bien établie. On sait, en effet, que la vitesse de dégradation d'un nombre important de produits naturels est

plus rapide en culture mixte qu'en culture pure. Cette stimulation de la décomposition s'expliquerait : 1° par l'élimination, par la microflore synergique, de produits de métabolisme nuisibles à la microflore principale (microflore directement responsable du processus de dégradation considéré) ; 2° par la production, par la microflore synergique, de substances favorisant la croissance de la microflore principale ; 3° par un effet de synergisme enzymatique. Ce dernier mécanisme joue, semble-t-il, un rôle très important. On sait, en effet (SELBY et MAITLAND, 1967), que la cellulose de Coton n'est pas attaquée par l'enzyme C_1 seule, ni par la CMCase seule, ni, bien entendu, par la cellobiase. Lorsque l'enzyme C_1 est associée à la CMCase, l'attaque est plus marquée ; lorsque l'enzyme C_1 est associée à la fois à la CMCase et à la cellobiase, la cellulolyse est encore plus active (tableau XCVI). On peut supposer que l'association de micro-organismes ayant individuellement un équipement enzymatique incomplet permet de réunir autour du substrat cellulose un ensemble d'enzymes dont l'action est renforcée par un processus synergique.

TABLEAU XCVI. — ACTIVITÉ CELLULOLYTIQUE ^(a) COMPARÉE D'ENZYMES ISOLÉES OU ASSOCIÉES
(SELBY et MAITLAND, 1967)

ASSOCIATIONS	ENZYMES	COTON	CMC ^(b)	CELLOBIOSE
Enzymes isolées	C_1	1,2	0	0
	CMC ase ^(c)	< 1	96	0
	Cellobiase	< 1	0	96
Enzymes associées	CMC ase + cellobiase	2	96	96
	C_1 + CMC ase	35	96	0
	C_1 + cellobiase	20	0	96
	C_1 + CMC ase + cellobiase	101	96	96

^(a) Il s'agit de l'activité relative exprimée par rapport à un témoin.

^(b) CMC : carboxyméthylcellulose.

^(c) CMC ase : carboxyméthylcellulase.

A titre d'exemple d'association cellulolytique synergique, on signalera celle qui peut s'établir entre *Trichoderma koningi* d'une part, *Chaetomium* sp. et *Cytophaga* sp. d'autre part : en présence de ces deux derniers micro-organismes, *T. koningi* décompose beaucoup plus rapidement la cellulose que s'il intervient seul. Mais toutes les associations de micro-organismes cellulolytiques ne présentent pas ce caractère synergique ; ainsi, en présence de micro-organismes tels que *Alternaria* sp. et *Phoma* sp., *T. koningi* voit son activité cellulolytique diminuer considérablement (WENT et DE JONG, 1966).

On considère qu'il existe des relations particulières entre les Bactéries cellulolytiques anaérobies et les Bactéries du méthane, les *Clostridium* cellulolytiques fournissant aux Bactéries du méthane les substrats suivants : acides formique et acétique, gaz carbonique, hydrogène. Il en résulte que, lorsque ces deux types de Bactéries coexistent dans

un milieu, la cellulose peut être intégralement transformée en composés gazeux (SKINNER, 1968).

On trouvera d'autres exemples d'associations cellulolytiques dans une revue récente d'IMSHENETSKY (1968).

2° Associations mycostatiques et mycolytiques

Les processus antagonistes sont stimulés par les micro-organismes se développant en association. Ainsi LOCKWOOD et LINGAPPA (1963) ont obtenu une amélioration de la mycostase et de la mycolyse en remplaçant l'inoculation d'un sol avec des souches pures par l'inoculation avec des complexes d'Actinomycètes.

3° Associations phytopathogènes

Un certain nombre de micro-organismes ne démontrent leur caractère pathogène qu'en présence d'un associé. L'étude de ce problème sort du cadre du présent ouvrage ; nous nous contenterons d'attirer l'attention du lecteur en donnant ici deux exemples d'associations phytopathogènes. Le premier concerne une maladie de l'Éillet dans laquelle *Rhizoctonia bataticola* ne parasite la plante qu'en association avec un autre micro-organisme : *Phialophora cinerescens* (MOREAU et MOREAU, 1956). Le deuxième concerne la pourriture généralisée des tubercules sous l'effet de l'attaque conjuguée de *Rhizoctonia solani* et *Fusarium solani*, l'un ou l'autre de ces Champignons ne causant qu'une pourriture localisée et sans gravité lorsqu'ils interviennent isolément (ELAROSI, 1957).

Il convient de rapprocher de ces associations celles beaucoup plus lâches qui se traduisent par la stimulation, par des produits de métabolisme microbien, de spores fongiques : c'est, en fait, un processus inverse de celui qui induit la mycostase. Citons, à titre d'exemple, les résultats d'une étude de TOUSSOUN (1963), d'où il résulte que des substances, d'ailleurs inconnues, apparaissant au cours de la décomposition de résidus végétaux, favorisent la germination des chlamydospores de *Fusarium solani*.

4° Associations de micro-organismes nitrificateurs

Les *Nitrosomonas* et *Nitrobacter* semblent vivre fréquemment en associations synergiques avec un certain nombre de micro-organismes appartenant aux genres *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Hyphomicrobium*, *Mycobacterium*, *Flavobacterium*, *Serratia* (GUNDERSEN, 1955). Ces associations ne présentent aucun caractère obligatoire puisqu'il est possible de cultiver à l'état pur les *Nitrosomonas* et *Nitrobacter* ; mais il est probable que, dans le sol, les micro-organismes associés modifient le comportement des Bactéries nitrifiantes autotrophes vis-à-vis des différents facteurs de l'environnement, notamment dans la rhizosphère.

5° Associations oxydatives du manganèse divalent

On sait que l'on rencontre fréquemment dans le sol des micro-organismes capables d'oxyder le Mn^{++} en Mn^{++++} et qu'il est facile de les mettre en évidence sur des milieux de culture à base de Mn^{++} par l'apparition de zones noires ou brunes résultant de la précipitation, sous leur action, d'oxydes de formule Mn_2O_3 ou MnO_2 . SKERMAN et BROMFIELD (1949) ont isolé de telles zones trois micro-organismes : *Pseudomonas*, *Serratia* et *Aerobacter*. Cultivés séparément, ces micro-organismes sont incapables d'oxyder le Mn réduit alors que, cultivés deux par deux, l'oxydation apparaît rapidement. ZAVARZIN (1962) a mis en évidence une association du même type entre deux souches de *Pseudomonas*.

6° Associations entre les Algues et des micro-organismes autres que les « Azotobacter »

De nombreuses souches de Bactéries, Actinomycètes et même Champignons stimulent la croissance des Algues soit en synthétisant des auxines telles que l'acide indol-acétique, soit en minéralisant l'azote ou en produisant des quantités importantes de gaz carbonique.

Nous citerons, à titre d'exemple, deux associations étudiées dans un sol nord-américain :

a) Association entre une Algue du genre *Bracteacoccus* et une Bactérie hétérotrophe. — La Bactérie stimule la croissance de l'Algue en minéralisant l'azote organique du sol, qui est alors facilement utilisé par l'Algue. Cet effet favorable de la Bactérie a été vérifié en milieu synthétique à base de glycine où l'Algue se développe beaucoup mieux en présence de la Bactérie qui ammonifie l'acide aminé.

b) Association entre une Algue du genre *Chlamydomonas* et un *Streptomyces*. — La mobilité de l'Algue et sa croissance sont stimulées par le CO_2 provenant de l'activité métabolique du *Streptomyces*. De son côté, l'Algue, par production de polysaccharides extracellulaires, met à la disposition de l'Actinomycète un substrat qui favorise la croissance et la production des conidies par ce dernier micro-organisme (PARKER et BOLD, 1961).

D. — INFLUENCE DES CONDITIONS ÉCOLOGIQUES SUR LES INTERACTIONS DE NATURE SYNERGIQUE

Considérons une association synergique *AB* de type commensal où *A* est le micro-organisme bénéficiaire dans des conditions écologiques données. Lorsque ces conditions

se modifient, pour une raison ou une autre, la nature de l'association peut changer : elle peut se transformer, par exemple, en association synergique de type symbiotique où les deux micro-organismes *A* et *B* sont bénéficiaires ; elle peut aussi se maintenir dans le cadre des associations synergiques commensales, mais avec inversion du bénéficiaire. L'association peut aussi disparaître. Les conditions écologiques qui régissent les interactions synergiques peuvent être de nature physique ou chimique ou biologique.

PREMIER EXEMPLE : influence du milieu physique. — En milieu liquide, la fixation d'azote par l'*Azotobacter* est stimulée par la présence de *Dematium pullulans* (Levure) : en milieu solide, elle est diminuée (LOHNIS et WESTERMANN, et OMELYANSKII, cités par RUBENCHIK, 1960).

DEUXIÈME EXEMPLE : influence du milieu chimique. — L'association entre le *Bracteacoccus* et une Bactérie hétérotrophe décrite antérieurement, disparaît lorsque le sol renferme suffisamment d'azote minéral (PARKER et BOLD, 1961).

TROISIÈME EXEMPLE : influence du milieu biologique. — En culture pure, une souche d'*Azotobacter* fixe 4,6 mg d'azote par g d'hydrate de carbone consommé. En culture mixte, avec une première souche bactérienne faiblement fixatrice d'azote (n° 13), le rendement de fixation baisse à 3,7 mg ; en culture mixte, avec une deuxième souche bactérienne également fixatrice d'azote (n° 12), le rendement de fixation est encore plus bas : 1,4 mg. Mais, en culture mixte avec les deux souches (n°s 12 et 13), le rendement de fixation est deux fois plus élevé qu'en culture pure : 8 mg (VINTICA et STANEK, cités par RUBENCHIK, 1960).

Ces exemples prouvent que les liens de synergie sont très sensibles aux conditions écologiques. Pour être certain de l'existence d'une association dans un sol donné, il est donc indispensable de vérifier que l'association décelée *in vitro* n'est pas un artefact de laboratoire et qu'elle joue un rôle effectif dans le sol considéré, où elle est soumise aux effets conjoints et complexes de multiples facteurs physiques, chimiques et biologiques. C'est précisément le mérite de chercheurs comme PARKER et BOLD, cités plus haut, d'avoir tenu le plus grand compte des facteurs édaphiques dans l'étude de leurs associations.

CHAPITRE II

LES ANTAGONISMES ENTRE LES DIVERS ÉLÉMENTS DE LA MICROFLORE

Les rapports entre micro-organismes telluriques ne se traduisent pas seulement par des interactions de nature synergique ; ils peuvent au contraire aboutir à l'apparition de processus antagonistes, dont nous examinerons d'abord les manifestations les plus importantes, puis les mécanismes : modification de l'environnement, compétition, production de substances toxiques ou inhibitrices, prédation et parasitisme. Nous évoquerons enfin les possibilités d'application au contrôle biologique des micro-organismes phytopathogènes.

A. — MANIFESTATIONS DES PROCESSUS D'ANTAGONISME DANS LES SOLS

L'inoculation d'un sol stérile avec un micro-organisme quelconque ne présente, en général, aucune difficulté particulière, à condition, bien entendu, que celui-ci dispose d'un substrat convenable et qu'il ne soit pas gêné par des facteurs écologiques hostiles. Par contre, l'inoculation du même sol, mais non stérile, est fréquemment vouée à un échec, qui ne peut s'expliquer que par l'intervention de processus antagonistes divers. Ces processus sont à l'origine de la disparition dans de nombreux types pédologiques de la plupart des micro-organismes pathogènes pour l'Homme, à l'exception de certains d'entre eux (micro-organismes responsables du charbon, du botulisme, de la gangrène gazeuse, du tétanos, des actinomycoses, de nombreuses mycoses et parfois de la peste). Ils sont aussi souvent à l'origine de la limitation de l'expansion des germes phytopathogènes. Nous en donnerons trois exemples :

PREMIER EXEMPLE. — Dans les vergers d'agrumes en Israël, on a constaté que *Fusarium solani* est absent dans la plupart des sols où *Trichoderma viride* est abondant ;

inversement, lorsque *Trichoderma viride* est absent, *Fusarium solani* s'installe facilement (JOFFE, 1966).

DEUXIÈME EXEMPLE. — L'étude de la distribution de la maladie des racines de Pin due à *Fomes annosus* révèle que les attaques de ce Champignon sont importantes dans certains sols alcalins, mais rares ou atténuées dans certains sols plus acides où les racines sont colonisées par *Trichoderma viride*, Champignon dont on a démontré *in vitro* le pouvoir antagoniste vis-à-vis de *Fomes annosus* : ce pouvoir antagoniste de *T. viride* résulte à la fois de la synthèse d'antibiotique, d'un pouvoir compétitif élevé dû à un taux de croissance très rapide, et d'une aptitude nette au mycoparasitisme (RISHBETH, 1952 ; MOREAU et SCHAEFFER, 1959).

TROISIÈME EXEMPLE. — L'infection du Trèfle par *Sclerotinia trifoliorum* est plus sévère dans un sol partiellement stérilisé que dans un sol non stérile, où l'attaque est fortement réduite par la microflore saprophyte ; le chaulage, qui augmente la densité de cette microflore saprophyte, diminue notablement l'infection (HALKILAHTI, 1964).

Les processus d'antagonisme se manifestent fréquemment : 1° par l'inhibition de la germination des spores fongiques, phénomène connu sous le nom de *mycostase* ou *fongistase* ; 2° par la lyse des Champignons ou *mycolyse* ; 3° par la lyse des Bactéries ou *bactériolyse*. Nous examinerons successivement ces trois types importants de manifestation de l'antagonisme dans le sol, puis nous évoquerons le cas de l'antagonisme mycorrhizien.

1° Mycostase ou fongistase

C'est un fait maintenant bien établi que, fréquemment, les spores fongiques en contact avec le sol ne germent pas, même si les conditions de l'environnement, en particulier la température et l'humidité, semblent favorables à la germination. Ce phénomène d'inhibition, qui intéresse non seulement les spores au moment de la germination, mais les hyphes en cours de croissance, a reçu le nom de *mycostase* ou *fongistase*. Il se développe souvent en même temps que le phénomène de mycolyse, mais semble s'en distinguer.

a) *Caractéristiques de la mycostase.* — 1° La mycostase est un phénomène très général, qui se manifeste aussi bien dans les sols tempérés que dans les sols tropicaux, à condition qu'ils soient placés dans des limites écologiques compatibles avec l'activité biologique. La mycostase varie considérablement d'un type de sol à l'autre et à l'intérieur d'un même type de sol, ce qui se conçoit fort bien puisque le milieu édaphique intègre à lui seul un nombre considérable de facteurs chimiques, physiques et biologiques, dont nous évoquerons l'influence sur la mycostase dans les paragraphes qui suivent.

La mycostase n'est d'ailleurs pas limitée aux sols puisqu'elle se retrouve sur d'autres substrats colonisables par les micro-organismes, tels que les chaumes de Céréales ou les feuilles mortes.

2° La liste des Champignons dont les spores sont sensibles à la mycostase est très longue et l'on peut même se demander s'il existe des espèces totalement indifférentes à ce phénomène. Il est toutefois possible de distinguer des variations de sensibilité : 1° suivant les espèces : *Fusarium culmorum* est peu sensible alors que *Phoma betae*, *Trichoderma lignorum*, *Penicillium notatum* et *Stachybotris atra* le sont beaucoup plus (PAYEN, 1962) ; 2° suivant les souches d'une même espèce (GRIFFITHS, 1966) ; 3° suivant la nature des spores : ainsi les chlamydospores de *Fusarium solani* ne germent pas dans le sol alors que les conidies de la même souche peuvent germer.

3° La mycostase varie au cours de l'année ; ainsi la mycostase de *Mucor ramanianus* présente, en région tempérée, un maximum en été et un minimum en hiver, la réduction hivernale de la mycostase étant attribuée soit à une diminution de l'activité des micro-organismes responsables de l'inhibition, soit à la libération de sucres ou autres substances nutritives provenant de cellules microbiennes mortes (DOBBS et GRIFFITHS, 1960).

4° La mycostase est susceptible d'être atténuée ou même supprimée par apport au sol de substances nutritives. — Parmi ces substances, les plus connues sont :

a) des substances organiques complexes telles que résidus végétaux (à l'exception des résidus à forte teneur en cellulose), exsudats racinaires, mélasses ;

b) quelques acides organiques et acides aminés : acide L-glutamique, acide ascorbique, acide citrique ;

c) de nombreux sucres, notamment les monosaccharides, les disaccharides s'avérant moins efficaces et les trisaccharides encore moins (voir, par exemple, PAYEN, 1962 ; LOCKWOOD, 1964). Les sels minéraux, à l'exception du sulfate d'ammoniaque, semblent sans effet.

Quelle que soit la nature de la substance apportée, la levée de la mycostase est éphémère. On notera, en outre, qu'une substance donnée ne présente pas toujours la même efficacité : ainsi le glucose, qui très généralement lève la mycostase, est parfois sans effet (DOBBS et coll., 1960).

La levée de l'inhibition mycostatique chez les Champignons des racines par les exsudats racinaires revêt une importance pratique considérable. Les fractions des exsudats les plus actives à ce point de vue seraient la fraction glucidique (glucose, notamment) et la fraction aminée (asparagine, en particulier). Des substances volatiles provenant de résidus végétaux pourraient aussi intervenir à distance pour lever la mycostase (MENZIES et GILBERT, 1967).

5° Inversement, la mycostase peut être renforcée par incorporation au sol de certaines autres substances organiques. — Ainsi, l'adjonction, à un sol limono-sableux de

l'Orégon, de paille d'Avoine développe la mycostase de ce sol vis-à-vis de *Verticillium albo-atrum*, alors que l'adjonction de paille de Luzerne est inefficace (POWELSON et PATIL, 1963). La lutte contre les micro-organismes phytopathogènes est en partie fondée sur l'emploi de substances renforçant la mycostase dans le sol.

L'adjonction au sol de substances renforçant ou atténuant la mycostase peut se faire spontanément. Tel est le cas des litières forestières, dont le rôle a bien été mis en lumière par DOBBS et GRIFFITHS (1960) : ces auteurs ont, en particulier, démontré que la litière de Conifères favorise davantage la mycostase que la litière de Feuillus.

6° La mycostase est supprimée par la stérilisation (chaleur ou antiseptiques) et par la dessiccation (DOBBS et coll., 1960), mais elle se réinstalle rapidement (6 à 14 jours) au fur et à mesure de la recolonisation du sol par les micro-organismes saprophytes.

b) Nature biologique de la mycostase. — La mycostase semble bien due à l'activité microbienne pour les raisons suivantes :

a) la mycostase est supprimée par la stérilisation par la chaleur, les antiseptiques et la dessiccation ; dans le cas de stérilisation partielle, elle réapparaît rapidement avec la recolonisation du sol par les micro-organismes ;

b) la mycostase peut être réinstallée par inoculation avec un peu de sol non stérile ou avec des micro-organismes ;

c) la mycostase est d'autant plus développée que l'activité microbienne du sol est intense. Elle diminue lorsque cette activité faiblit, en particulier dans les horizons profonds ou dans les sols où l'acidité restreint la densité des micro-organismes.

Dans certains sols, à l'inhibition mycostatique de nature biologique, pourrait s'ajouter ou se substituer une inhibition mycostatique de nature non biologique ; une mycostase de ce type a été signalée dans les horizons très profonds (150 à 360 cm) de sols de Malaisie par GRIFFITHS (1966).

c) Origine de la mycostase. — Pour expliquer l'origine de la mycostase, on fait actuellement appel à l'une ou l'autre des hypothèses suivantes :

a) *Hypothèse de l'origine compétitive.* — La mycostase serait due à la déficience du sol en substrats nécessaires à la germination des spores fongiques, d'où apparition d'une compétition très vive entre ces spores d'une part et les autres micro-organismes telluriques d'autre part.

b) *Hypothèse de l'induction par des substances inhibitrices.* — La mycostase serait due à la diffusion dans le sol de substances inhibitrices (mycostatiques), en particulier des antibiotiques.

La première hypothèse sera discutée à l'occasion de l'étude de la compétition, la deuxième à l'occasion de l'étude de l'antibiotisme.

d) **Conséquences de la mycostase.** — Aussi longtemps que le sol est déficient en substrats nutritifs, les spores de Champignons sensibles à la mycostase restent à l'état de dormance. Il n'y a donc pas de risque de germination dans un milieu trop appauvri pour supporter la croissance ultérieure du mycélium. La mycostase serait donc un mécanisme de survie qui jouerait un rôle important, notamment dans le cas des espèces fongiques saprophytes éphémères et dans le cas des espèces associées aux racines (JACKSON, 1965b). Mais ce mécanisme ne fonctionne pas toujours : l'on connaît des Champignons, tel *Glomerella cingulata*, qui ne bénéficient pas de cette protection (LOCKWOOD, 1964).

2° Mycolyse

Par mycolyse, on entend la destruction dans le sol de mycéliums fongiques vivants.

Bien que la bactériolyse (cf. paragraphe suivant) soit extrêmement répandue dans le sol, c'est surtout la mycolyse qui a fait l'objet de travaux suivis. On peut attribuer le développement relatif des recherches dans cette voie au fait que la connaissance de la mycolyse est susceptible d'applications pratiques dans le domaine de la lutte contre les Champignons phytopathogènes (cf. *infra*, p. 714).

Pour expliquer la mycolyse dans le sol, on peut faire appel à l'une ou/et à l'autre des trois théories suivantes :

a) **théorie enzymatique** : des enzymes extracellulaires (enzymes lytiques) hydrolyseraient les membranes cellulaires des Champignons (cf. p. 717) ;

b) **théorie des mycotoxines** (antibiotiques et fongicides divers) : ces substances tueraient les Champignons et provoqueraient une autolyse des mycéliums ;

c) **théorie de la déficience alimentaire** : lors de la germination des spores — qui est possible lorsque la mycostase est levée — les mycéliums qui ne trouveraient pas les composés nutritifs indispensables mourraient, d'où autolyse.

D'après LLOYD (1965), la mycolyse ne serait pas due aux enzymes : c'est ainsi que la chitinase seule ou en association avec d'autres enzymes ne peut lyser les mycéliums vivants de *Glomerella cingulata*, ou *Fusarium solani* f. *lisi* ; la mycolyse serait essentiellement de nature autolytique : elle apparaîtrait lorsque le Champignon est à la fois privé de composés nutritifs et en contact avec des substances mycotoxiques. En d'autres termes, la mycolyse résulterait de la déficience alimentaire et de l'action des mycotoxines.

On a mis en évidence un certain nombre de micro-organismes — Actinomycètes et Bactéries — impliqués dans les processus de mycolyse : nous les désignons sous le terme de micro-organismes mycolytiques.

a) **Actinomycètes mycolytiques.** — L'activité mycolytique est très répandue chez les Actinomycètes parallèlement à leur activité de synthèse d'antibiotiques. Il

semble même que cette activité soit plus fréquente chez les Actinomycètes, et notamment chez les *Streptomyces*, que chez les Bactéries. Ainsi LOCKWOOD et LINGAPPA (1963) ont obtenu la lyse du mycélium vivant de *Glomerella* avec 14 sur 20 souches d'Actinomycètes, alors que les 27 souches bactériennes et les 20 souches fongiques testées dans les mêmes conditions expérimentales, n'ont manifesté aucune action mycolytique.

b) Bactéries mycolytiques. — L'existence de Bactéries mycolytiques, dont certaines appartiennent aux genres *Bacillus* et *Pseudomonas*, est connue depuis longtemps par les travaux de l'école russe. Ces travaux sont plus spécialement orientés vers l'étude de la microflore bactérienne mycolytique de la rhizosphère de différentes plantes cultivées.

Certaines plantes hébergent dans leur rhizosphère une microflore bactérienne mycolytique très abondante : c'est le cas de nombreuses Légumineuses et plus particulièrement de la Luzerne : la densité de cette microflore atteint 10^5 à 10^6 micro-organismes/g de sol dans la rhizosphère de Luzerne cultivée sur sierozem (sol gris subdésertique).

Parmi les Champignons sensibles à la mycolyse d'origine bactérienne, on connaît bien les *Fusarium* (PARK, 1956 ; KRASILNIKOV, 1958 ; MITCHELL et ALEXANDER, 1963). Le faible développement des *Fusarium* pathogènes dans les cultures de Blé serait imputable à la prolifération des Bactéries mycolytiques dans la rhizosphère de cette plante (KRASILNIKOV, 1958). En dehors du *Fusarium*, de très nombreux autres genres fongiques présentent une sensibilité marquée à la lyse ; ainsi, dans des sols du Kazakhstan, NOVOGRUDSKI, cité par KRASILNIKOV (1958), a isolé des Bactéries mycolytiques vis-à-vis des Champignons suivants : *Verticillium dahliae*, *Colletotrichum lini*, *Alternaria tenuis*, *Amblyosporium botrytis*, *Pyronema confluens*, *Rhizoctonia solani*, *Mucor racemosus*. La lyse n'atteint pas seulement les mycéliums, mais peut aussi se manifester à l'égard de sclérotés (*Sclerotinia*, *Verticillium*), dont la structure est profondément altérée (PARK, 1956).

3° Bactériolyse

La lyse des Eubactéries est très fréquente dans le sol. Parmi les micro-organismes bactériolytiques, les Myxobactéries occupent une place de choix. Ces Protistes inférieurs, qui se classent entre les Cyanophycées et les Spirochètes, produisent des enzymes lytiques qui détruisent les cellules bactériennes, dont elles se nourrissent. Il s'agit donc ici d'une forme d'antagonisme qui se rapproche de la prédation. Le développement luxuriant des Myxobactéries sur le fumier s'expliquerait par le fait que ce substrat est exceptionnellement riche en cellules microbiennes, qui leur servent d'aliment.

4° Antagonisme mycorrhizien

a) Antagonisme entre systèmes mycorrhiziens. — Pour expliquer les échecs répétés du reboisement des landes à *Calluna vulgaris* de Grande-Bretagne avec certaines espèces forestières, dites sensibles à la Callune (*Picea abies*, par exemple), alors que les

espèces colonisatrices des landes s'installent sans difficulté (*Betula* spp., *Pinus sylvestris*, *Quercus* spp., *Juniperus communis*, *Sorbus aucuparia*...), HANDLEY (1963) a émis l'hypothèse ⁽¹⁾ que les mycorrhizes endotrophes de *Calluna vulgaris* élaborent et libèrent des substances antagonistes des mycorrhizes ectotrophes des espèces sensibles telles que *Picea abies*. Ces substances sont sans effet vis-à-vis de *Boletus scaber*, Champignon qui constitue les mycorrhizes des arbres colonisateurs des landes à *Calluna vulgaris*. HANDLEY estime que les antagonismes mycorrhiziens ne seraient pas rares. Il cite, entre autres, l'antagonisme possible entre : 1° *Vaccinium* et *Picea* ; 2° *Araucaria cunninghamii* et la flore xérophile à *Eucalyptus* ; 3° *Juglans* et diverses plantes dont le Pommier, la Pomme de terre, la Tomate, les Ericacées ; 4° *Hedera helix* et de nombreuses plantes herbacées.

La théorie de HANDLEY justifierait donc l'existence de certaines interactions de nature antagoniste entre plantes supérieures (*Calluna* contre *Picea*, par exemple) par l'apparition d'antagonismes à l'échelle des systèmes mycorrhiziens. Cet antagonisme entre plantes supérieures serait donc d'une autre nature que l'antagonisme direct lié à l'excrétion racinaire par une plante de substances inhibitrices vis-à-vis d'une autre plante (KRASILNIKOV, 1958 ; BOULLARD et MOREAU, 1962).

b) Antagonisme entre systèmes mycorrhiziens et micro-organismes pathogènes. — Les mycorrhizes ectotrophes peuvent jouer le rôle d'une barrière protectrice contre les micro-organismes pathogènes ; en effet, on a démontré expérimentalement que *Phytophthora cinnamomi* n'infecte pas les racines mycorrhizées de *Pinus taeda* ou de *P. echinata*, alors que l'infection atteint 100 % des racines non mycorrhizées (MARX et DAVEY, 1967).

B. — MODIFICATIONS DE LA COMPOSITION DE L'ATMOSPHERE, DU pH ET DU Eh

L'activité de certains micro-organismes entraîne des modifications plus ou moins importantes du milieu où ils se développent ; ces modifications peuvent s'avérer défavorables à d'autres micro-organismes.

On admet que l'accumulation de CO₂ — qui résulte *pro parte* des activités microbiennes — peut modifier sensiblement l'équilibre biologique. Cette accumulation est parfois considérable. Ainsi, immédiatement après l'addition au sol de poudre de Luzerne (1 %), l'atmosphère du sol, à une profondeur qui n'est pas supérieure à 30 mm, renferme 30 % de CO₂ (CLARK, cité par PAPAIVAS et DAVEY, 1962). On sait d'autre part que certains micro-organismes appartenant aux genres *Rhizoctonia* (fig. 176),

(1) Un autre aspect de cette théorie a été traité page 670.

Rhizopus, *Trichoderma*, souffrent de l'enrichissement de l'atmosphère du sol en CO_2 , alors que d'autres sont favorisés ou tout au moins non inhibés (*Fusarium*). Il est donc probable que l'élévation de la teneur en CO_2 de l'atmosphère du sol à la suite de l'incorporation d'amendements organiques contribue à éliminer ou à réduire l'activité des micro-organismes sensibles à l'effet toxique de fortes doses de CO_2 . Notons, à ce

propos, que cet effet toxique semble plutôt de nature bactériostatique ou mycostatique que bactéricide ou fongicide.

Dans les sols hydromorphes où elles sont actives, les Algues peuvent contribuer à élever le pH en absorbant le CO_2 sous forme de H_2CO_3 ou HCO_3^- (BAAS, BECKING et coll., 1960).

Les micro-organismes qui, à partir de certains substrats, peuvent modifier le pH, éliminent ceux qui sont sensibles à ces variations du pH. On en a donné quelques exemples page 384.

Les modifications du Eh par une ou plusieurs espèces microbiennes peuvent être telles qu'elles aboutissent à la disparition des micro-organismes sensibles. Ainsi *Chlorella vulgaris*, en culture mixte avec des Bactéries, réduit considérablement l'activité bactérienne en élevant le Eh ; cet antagonisme peut être levé artificiellement par apport de substances réductrices (MAKSIMOVA et FEDENKO, 1965). La disparition de nombreux micro-organismes de milieux où prolifèrent les Bactéries sulfatoréductrices serait due

non seulement à la toxicité de l'hydrogène sulfuré, mais aussi à l'abaissement considérable du potentiel d'oxydo-réduction.

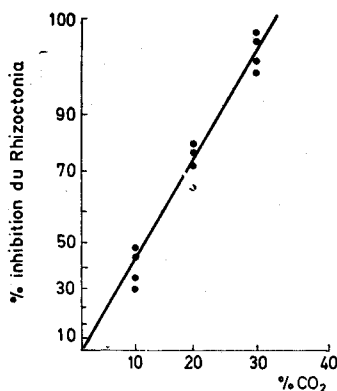


FIG. 176. — Influence de la teneur en CO_2 sur le développement saprophytique d'un *Rhizoctonia* sp. dans un limon sableux fin (PAPAVIZAS et DAVEY, 1962).

C. — COMPÉTITION

Dans le sol, les substances nutritives se trouvent en général en quantité limitée et les micro-organismes telluriques entrent en compétition pour se les procurer : il s'agit d'une *compétition nutritive*. Lorsque, exceptionnellement, un microhabitat tellurique est très riche en substrats nutritifs (rhizosphère, particule de matière organique fraîche), la *compétition* s'exerce pour l'espace, le volume disponible pour la prolifération des colonies bactériennes ou des hyphes fongiques étant limité aux pores du sol. En pratique, la compétition nutritive joue un rôle beaucoup plus important que la compétition pour l'espace et, lorsqu'il sera question ici de compétition, on sous-entendra qu'il s'agit de compétition nutritive.

Nous avons adopté ici le terme de compétition (nutritive) dans son sens strict de concurrence entre deux micropopulations, ou plus, pour l'utilisation de substances nutritives disponibles en quantité limitée dans le milieu. Mais certains auteurs donnent au terme de compétition un sens beaucoup plus large, puisqu'ils désignent ainsi toutes les interactions possibles, allant de la compétition *sensu stricto* à l'antibiotisme et à la prédation (CLARK, 1965).

Les processus de compétition nutritive sont encore mal élucidés, mais ils semblent jouer dans l'équilibre biologique du sol un rôle au moins aussi important que les processus d'antagonisme fondés sur la production de substances toxiques ou inhibitrices.

1° Compétition pour le carbone organique

Le facteur limitant du développement microbien dans le sol est essentiellement le carbone organique.

Il s'agit, bien entendu, du carbone organique utilisable par les micro-organismes et non du carbone organique bloqué dans des combinaisons non ou difficilement métabolisables. La compétition vis-à-vis des aliments carbonés facilement métabolisables est très vive en général et se traduit par l'élimination des micro-organismes à pouvoir compétitif faible par les micro-organismes à pouvoir compétitif élevé.

L'existence d'une compétition pour le carbone entre *Fusarium oxysporum* et différentes Bactéries concurrentielles, mais ne présentant aucune activité antibiotique vis-à-vis du *Fusarium*, a pu être démontrée dans un sol limoneux d'Amérique centrale caractérisé par de très faibles réserves en substances énergétiques hydrocarbonées. Cet antagonisme est bien dû à une déficience en carbone organique puisqu'il cesse lors d'un apport d'hydrate de carbone. Il convient de noter que la compétition n'apparaît que si la microflore bactérienne concurrentielle s'installe et prolifère suffisamment dans le sol considéré, ce qui n'est pas toujours le cas (FINSTEIN et ALEXANDER, 1962).

2° Compétition pour les composés azotés minéraux

Lorsque la teneur du sol en carbone assimilable par les micro-organismes est suffisante, une des premières déficiences à apparaître est la déficience azotée. Cette déficience est facile à mettre en évidence dans des modèles constitués par des cultures mixtes sur des substrats à C/N variable. Un tel modèle a été réalisé par MARSHALL et ALEXANDER (1960) avec d'une part *Fusarium oxysporum* f. *cubense* et d'autre part *Agrobacterium radiobacter*, Bactérie ne présentant aucune activité antibiotique vis-à-vis du *Fusarium*.

Ces deux micro-organismes sont ensemencés sur des boîtes de Petri remplies de terre préalablement stérilisée et enrichie avec des doses variables de glucose et nitrate de potassium. L'inhibition du *Fusarium* par l'*Agrobacterium*, qui se manifeste par une

réduction du diamètre de la colonie fongique, apparaît nettement dans les sols insuffisamment enrichis en azote minéral ; mais elle disparaît lorsque le C/N du mélange nutritif (glucose et nitrate) incorporé au sol est inférieur à 5 (tableau XCVII). Ces résultats montrent que la Bactérie induit dans le sol une déficience azotée par immobilisation de l'azote disponible.

TABLEAU XCVII. — INFLUENCE D'APPORTS DE GLUCOSE ET DE NITRATE SUR LA COMPÉTITION ENTRE « AGROBACTERIUM RADIOBACTER » ET « FUSARIUM OXYSPORUM » (MARSHALL et ALEXANDER, 1960)

ÉLÉMENTS DU MÉLANGE NUTRITIF INCORPORÉ AU SOL		C/N DU MÉLANGE NUTRITIF INCORPORÉ AU SOL	EXTENSION RADIALE DU MYCÉLIUM FONGIQUE (cm)	
Glucose %	KNO ₃ %		<i>Fusarium</i>	<i>Fusarium</i> + <i>A. radiobacter</i>
0	0	—	2,8	1,2
	0,25	—	2,9	1,0
	0,50	—	3,1	0,8
	2,50	—	2,8	2,9
1,0	0	—	5,5	2,1
	0,25	10	5,2	1,9
	0,50	5	5,4	1,9
	2,50	1	5,4	5,0
3,0	0	—	5,3	1,8
	0,25	30	5,2	1,8
	0,50	15	5,4	2,0
	2,50	3	5,2	5,2

Le Rhizoctonia se comporte de la même façon que le *Fusarium*. En effet, l'incorporation au sol d'amendements à C/N élevé tend à inhiber son développement saprophyte : inversement, l'apport d'azote minéral le stimule très nettement (DAVEY et PAPAIVIZAS, 1963).

Il en est de même pour *Ophiobolus graminis*, pour qui l'addition d'azote minéral au sol favorise la survie alors que l'accroissement du C/N ou un accroissement de la teneur en C est défavorable. On a mis à profit le développement de ces antagonismes de nature compétitive vis-à-vis de l'azote pour tenter de contrôler certaines maladies des plantes telles que celles dues à *Rhizoctonia solani* (GARRETT, 1965).

3° Compétition pour les composés minéraux autres que les composés azotés

La compétition pour les composés minéraux autres que les composés azotés ne se manifeste que dans des sols dont les réserves en carbone organique et azote assimilable

par les micro-organismes sont très élevées. Les deux premiers éléments qui constituent alors les facteurs limitants semblent être le phosphore et le soufre.

4° Compétition pour les vitamines et autres facteurs de croissance

En dehors de la compétition pour le carbone, l'azote et divers composés minéraux, les rivalités microbiennes peuvent aussi s'exercer vis-à-vis de substances vitaminiques ou d'autres facteurs de croissance. Ainsi la croissance de *Phytophthora cryptogea*, micro-organisme pathogène des racines de Luzerne, est inhibée en présence de Bactéries compétitives exigeant la thiamine pour se développer, lorsque la teneur du milieu en thiamine est insuffisante (10 $\mu\text{g/litre}$) ; cette inhibition est levée dans le même milieu si l'on ajoute un excès de thiamine (200 $\mu\text{g/litre}$) (KATZNELSON, 1965).

5° Facteurs de l'environnement influant sur la compétition

Les processus de compétition, comme les autres processus antagonistes ou synergiques, sont très sensibles à l'influence des facteurs de l'environnement.

Nous en donnerons trois exemples :

PREMIER EXEMPLE. — Influence de l'humidité du sol. La compétition entre *Fusarium* et *Agrobacterium* vis-à-vis du carbone organique, dont il a été question antérieurement, s'avère beaucoup plus vive dans le sol saturé que dans le sol maintenu à la capacité au champ (FINSTEIN et ALEXANDER, 1962).

DEUXIÈME EXEMPLE. — Influence du pH. L'étude comparée de la compétition d'*Agrobacterium radiobacter* vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* dans deux sols à pH différents révèle que la Bactérie n'évince le Champignon que dans le sol à pH 7,4, mais est incapable de l'éliminer dans le sol à pH 5,0, vraisemblablement parce que l'acidité gêne le développement bactérien : en effet, la compétition réapparaît dans le sol acide amendé par un chaulage qui porte son pH à 6,6 (MARSHALL et ALEXANDER, 1960).

TROISIÈME EXEMPLE. — Influence de la température. La colonisation de la paille de Blé par *Fusarium culmorum*, *Gibberella zeae*, *Cochliobolus sativus*, *C. spicifer* est beaucoup plus active à 10 °C qu'à des températures de l'ordre de 20 ou 30 °C, car, à ces dernières températures, ces Champignons se heurtent à l'antagonisme des autres éléments de la microflore tellurique (CHEN et GRIFFIN, 1966).

6° Origine de l'aptitude compétitive des micro-organismes

L'aptitude compétitive des micro-organismes repose sur des qualités physiologiques particulières qui n'ont pas encore été déterminées avec certitude. Parmi celles-ci, on soupçonne plus particulièrement la vitesse de croissance : FINSTEIN et ALEXANDER (1962)

ont, en effet, établi l'existence d'une corrélation positive entre l'aptitude compétitive de différentes Bactéries et leur taux de croissance, les micro-organismes à croissance rapide manifestant un pouvoir compétitif élevé. Contrairement à ce qu'on pourrait penser, il ne semble pas que les Bactéries les plus compétitives soient les moins exigeantes en facteurs de croissance.

7° Notion de potentiel d'inoculum

La compétition n'est pas seulement fonction des qualités intrinsèques d'une espèce microbienne, c'est-à-dire de son *aptitude compétitive* propre ; elle dépend aussi de sa densité sur le substrat considéré, que l'on désigne sous le terme de *potentiel d'inoculum*.

C'est pourquoi des Champignons peu aptes à la compétition saprophytique tels que *Ophiobolus graminis*, *Helminthosporium sativum*, *Cercospora herpotrichoides*, peuvent coloniser une grande partie des substrats mis à leur disposition si leur potentiel d'inoculum est suffisamment élevé par rapport à celui d'autres espèces fongiques plus compétitives (GARRETT, 1965).

8° Remarque concernant la compétition pour l'eau, l'oxygène et l'espace

La réalité d'une compétition pour des substrats consommables (carbone organique, composés azotés minéraux, par exemple) n'est pas discutable. Il n'en est pas de même pour l'eau qui, bien que consommable, intervient en fait plutôt en tant que facteur de l'environnement physique au même titre que la température. Lorsque l'humidité du sol est faible ou très faible (tension supérieure à 100 atmosphères, par exemple), les micro-organismes coexistant pour une substance (l'eau) en quantité limitée ; il y a seulement lutte pour l'existence n'implique nullement une compétition entre les divers micro-organismes coexistant pour une substance (l'eau) en quantité limitée ; il y a seulement lutte d'un micro-organisme donné aux prises avec un environnement physique peu favorable. Bien plus, l'activité microbienne tend à augmenter plutôt qu'à diminuer la teneur en eau du sol : dans un milieu sec, ce sont des relations de commensalisme qui s'établissent donc et non des relations de nature compétitive. Il est bien connu que si, dans un stock de grains ou de fourrage sec, l'activité microbienne démarre dans quelques microsites relativement humides, elle peut ultérieurement se développer autocatalytiquement dans la masse par suite de la production d'eau métabolique (CLARK, 1965).

La compétition vis-à-vis de l'oxygène est indéniable si l'on se place dans le cas de deux micro-organismes obligatoirement aérobies. Mais, si l'on considère le sol globalement, l'oxygène apparaît plutôt être un facteur de l'environnement qui oriente le métabolisme microbien dans une direction ou une autre : métabolisme aérobie, anaérobie modéré, anaérobie strict (cf. p. 398).

Quant à la compétition pour l'espace, il ne semble pas, dans l'état actuel de nos connaissances, qu'elle puisse être considérée souvent comme responsable de la limitation de la croissance microbienne dans le sol (CLARK, 1965).

9° Théorie de l'origine compétitive de la mycostase

Pour certains auteurs, dont LOCKWOOD (1964), l'inhibition de la germination des spores fongiques proviendrait non pas de l'intervention de substances inhibitrices (cf. p. 708) mais d'une déficience en substrats favorables résultant de leur épuisement par des micro-organismes telluriques concurrents. Cette théorie présente l'avantage d'expliquer certains aspects remarquables de la mycostase, en particulier :

- a) sa non-spécificité ;
- b) sa restauration, dans des sols où on l'a éliminée artificiellement (par exemple par autoclavage), par inoculation avec des micro-organismes même non producteurs de substances mycostatiques ;
- c) sa suppression par apport de composés nutritifs appropriés ;
- d) la persistance de la viabilité des spores dans le sol.

D. — PRODUCTION DE SUBSTANCES INHIBITRICES OU TOXIQUES

Une forme très fréquente d'antagonisme résulte de la production par une espèce microbienne (désignée souvent sous le terme d'espèce antagoniste *sensu stricto*) de substances toxiques pour les espèces qui se trouvent à proximité. Ces substances peuvent ne présenter aucune spécificité : elles agissent sur un très grand nombre d'espèces microbiennes. Elles peuvent, au contraire, ne s'avérer toxiques que vis-à-vis de certains groupes ou certaines espèces sensibles : on dit qu'elles sont spécifiques. L'effet de ces substances est très variable. On distingue en général :

- a) un effet bactériostatique ou mycostatique (fongistatique), se traduisant par un arrêt de la croissance de la Bactérie ou du Champignon ;
- b) un effet bactéricide ou fongicide, se traduisant par la mort définitive de la Bactérie ou du Champignon ;
- c) un effet bactériolytique ou mycolytique, se traduisant par la désintégration ou lyse des cellules bactériennes ou fongiques.

Les substances inhibitrices ou toxiques ont une structure chimique simple (acides minéraux, par exemple) ou complexe (antibiotiques ou enzymes lytiques). Nombre d'entre elles sont encore indéterminées.

1° Substances à structure chimique simple

On sait que l'activité de certains micro-organismes peut se traduire par l'accumulation dans le sol de diverses substances minérales (telles que l'ammoniac, les nitrites, l'hydrogène sulfuré) ou organiques (telles que les alcools ou les acides organiques). Or, à partir de doses plus ou moins élevées, ces différentes substances se révèlent toxiques pour de nombreux autres micro-organismes. On se trouve donc en présence de processus d'antagonisme à caractère non ou peu spécifique.

2° Antibiotiques

a) *Mise en évidence du phénomène d'antibiose dans le sol.* — Pour mettre en évidence l'existence dans le sol de micro-organismes producteurs d'antibiotiques, il suffit d'ensemencer un milieu gélosé riche avec une suspension-dilution convenable de sol. Alors que la plupart des colonies microbiennes sont rapprochées les unes des autres, certaines apparaissent entourées d'un halo clair pauvre ou très pauvre en colonies microbiennes. Ce halo est dû à la production par la colonie située à son centre d'une substance qui, à faible concentration, inhibe la croissance d'un ou de plusieurs autres micro-organismes. Il est possible de vérifier ensuite l'aptitude du micro-organisme considéré à produire un antibiotique par les tests classiques en milieu solide (technique des stries) ou en milieu liquide.

Il est, par contre, difficile de déceler dans le sol la présence des substances antibiotiques, de les identifier et, plus encore, d'effectuer des dosages quantitatifs, sauf dans le cas particulier de sols très riches ou enrichis artificiellement en matière organique. Cette difficulté est due : 1° à leur très faible teneur dans le sol, sauf dans certains microhabitats, en particulier au niveau de particules de matière organique ; 2° à leur fugacité, les antibiotiques pouvant subir une dégradation par voie biologique ; 3° à leur adsorption sur les argiles, qui est très énergique dans le cas des antibiotiques cationiques (cf. p. 466).

La mise au point récente (SOULIDES, 1964) de méthodes très sensibles permettant de détecter des doses très faibles (0,3 μg de carbomycine ; 0,08 μg de terramycine ; 0,02 μg d'auréomycine par gramme d'un sol moyennement argileux) contribuera certainement à faire progresser nos connaissances sur la production effective d'antibiotiques *in situ*.

b) *Mécanisme d'action des antibiotiques.* — Les antibiotiques agissent, en général, en inhibant l'activité ou la synthèse d'un constituant cellulaire essentiel. Ainsi, la mitomycine C, antibiotique produit par un *Streptomyces*, perturbe la biosynthèse de l'ADN ; la pénicilline perturbe celle du mucocomplexe des parois cellulaires, d'où lyse osmotique du micro-organisme sensible lorsqu'il se trouve en milieu hypotonique.

D'autres antibiotiques agissent en désorganisant la membrane des cellules à la manière d'un détergent ; c'est le cas de la polymyxine, synthétisée par une Bactérie sporulée aérobie fréquente dans le sol : *Bacillus polymyxa*.

c) **Les micro-organismes producteurs d'antibiotiques dans le sol.** — La microflore tellurique renferme une très forte proportion de micro-organismes capables de synthétiser des substances antibiotiques vis-à-vis de micro-organismes très divers : Bactéries, Actinomycètes, Champignons. Ainsi la densité de ces micro-organismes antagonistes de l'*Azotobacter* dans divers sols étudiés par KRASILNIKOV (1958) oscille entre 10 000 et 450 000 Bactéries, 1 500 à 17 000 Champignons, 16 000 à 160 000 Actinomycètes ; dans les mêmes sols, la densité des antagonistes vis-à-vis d'autres espèces microbiennes telles que *Bacillus mycoides*, *Bacillus subtilis*, *Fusarium lini*, est encore plus élevée : 10 000, 100 000 et parfois même 1 000 000 par g de sol. En ce qui concerne les *Rhizobium*, il est certain que le pourcentage des antagonistes vis-à-vis de ce micro-organisme dans le sol, et notamment dans la rhizosphère des Légumineuses, est considérable ; il peut y représenter le quart de la population (VISONA et TARDIEUX, 1964).

On a vu que les Actinomycètes se classaient parmi les micro-organismes les plus actifs en ce qui concerne la production d'antibiotiques (cf. p. 28). Cette propriété est très répandue chez les genres *Streptomyces*, *Nocardia*, *Micromonospora*. Parmi les Bactéries, de nombreux producteurs d'antibiotiques appartiennent aux genres *Bacillus* et *Pseudomonas*. Le groupe des *Bacillus subtilis-mesentericus* est particulièrement actif et son pouvoir antibiotique présente un spectre très étendu (AFRIKIAN, 1963). Quant aux Champignons, nous citerons parmi les plus connus à ce point de vue, les genres *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Fusarium*, *Sclerotinia*.

d) **Facteurs majeurs régissant la production d'antibiotiques dans le sol.**

— 1° **Présence de substances organiques favorisant les producteurs d'antibiotiques.** — Des substances organiques très diverses — glucose, amidon, poudre de Luzerne, poudre de Soja, fumier de ferme — qui ne sont pas obligatoirement les mêmes que celles qui conviennent le mieux à la croissance des micro-organismes, ont la propriété de favoriser la synthèse des antibiotiques (KRASILNIKOV, 1958). Ainsi, chez diverses souches de *Streptomyces*, la production de substances antagonistes vis-à-vis d'*Azotobacter* et *Rhizobium* est stimulée par certains hydrates de carbone (glucose, maltose, amidon) mais pas par d'autres (fructose, saccharose) ; de même certaines formes d'azote (nitrate de potassium, asparagine) sont plus favorables que d'autres (STRZELCZYKOWA et STRZELCZYK, 1961).

La stimulation préférentielle de la microflore antagoniste par rapport à la microflore non antagoniste a été mise en évidence dans un sol limono-argileux égyptien, où l'apport de glucose entraîne, après dix jours d'incubation, la multiplication par 11 de la densité des Bactéries non antagonistes et par 30 de la densité des Bactéries antagonistes (ABD-EL-MALEK et coll., 1961).

Les substances exsorbées par les racines stimulent préférentiellement certains antagonismes (cf. p. 575). Ainsi, l'antagonisme d'un *Pseudomonas* vis-à-vis d'*Arthrobacter globiformis* se développe en présence d'extraits racinaires alors qu'il est beaucoup plus discret en présence d'extrait de sol (CHAN et KATZNELSON, 1961). De même la suprématie d'un *Pseudomonas* vis-à-vis d'un *Azotobacter* et d'un *Bacillus* se manifeste dans un milieu à base d'extrait racinaire mais pas dans un milieu à base d'extrait de sol (KATZNELSON, 1965).

2° Facteurs de nature biologique. — La production nette d'antibiotiques par des micro-organismes introduits dans le sol est toujours plus élevée en milieu stérile qu'en milieu non stérile (tableau XCVIII). Ce ralentissement de la production en milieu non stérile peut être attribué : 1° à la biodégradation des antibiotiques au fur et à mesure de leur synthèse ; 2° à l'inhibition, par antibiose ou compétition, des micro-organismes producteurs de l'antibiotique considéré ; 3° à l'intervention de facteurs biologiques non encore identifiés. L'hypothèse de l'inhibition par compétition semble confirmée par un travail de WRIGHT (1954 à 1956) sur la production par *Penicillium nigricans* de griséofulvine dans un sol stérile en l'absence ou en présence d'autres Champignons : cultivé seul, *Penicillium nigricans* synthétise des quantités importantes de griséofulvine ; mais en présence d'autres Champignons, même non producteurs d'antibiotiques tels que *Mucor ramannianus*, sa production de griséofulvine baisse considérablement ; cette baisse de production se manifeste aussi lorsqu'on procède à une inoculation préalable du sol stérile avec du sol non stérile.

Si l'on observe fréquemment une inhibition importante de la synthèse de substances antibiotiques dans le sol non stérile, il est cependant des cas où cette inhibition est

TABLEAU XCVIII. — PRODUCTION NETTE D'ANTIBIOTIQUES DANS DES SOLS STÉRILES OU NON STÉRILES ENSEMENCÉS AVEC DIVERS ACTINOMYCÈTES (KRASILNIKOV, 1958)

ACTINOMYCÈTES	SOLS STÉRILES				SOLS NON STÉRILES			
	Podzol	Sierozem	Chernozem	Krasnozem	Podzol	Sierozem	Chernozem	Krasnozem
<i>A. aurantiacus</i> 1149	200	50	100	80	80	10	30	0
<i>A. globisporus</i> 81-B	120	100	60	60	60	60	40	20
<i>A. globisporus</i> 2302	80	30	100	20	30	0	20	0
<i>A. globisporus</i> 2570	150	20	60	50	50	20	20	0
<i>A. griseus</i> 2535	170	100	100	120	80	40	30	40

N. B. — Les résultats sont exprimés en unités par gramme de sol.

insignifiante ; c'est ainsi que Wright (1954 à 1956) a obtenu une production notable d'antibiotiques dans un sol non stérile en y semant des graines inoculées avec une souche de *Trichoderma viride* productrice de gliotoxine.

Parallèlement à ce phénomène d'inhibition de l'antibiose que l'on vient de décrire, il existe un phénomène inverse : celui de l'induction de propriétés antibiotiques chez un micro-organisme non producteur d'antibiotique lorsqu'il est mis en présence d'un autre micro-organisme qui joue le rôle d'inducteur. Ainsi, *Bacillus subtilis* cultivé en présence d'un *Penicillium* synthétise une substance antibiotique vis-à-vis de ce Champignon, alors qu'en culture pure il ne présente pas cette propriété (KRASILNIKOV, 1958).

3° **Facteur pédologique.** — Le type de sol influe considérablement sur la production nette d'antibiotique par une souche donnée. Les résultats obtenus par KRASILNIKOV (1958) à partir de divers types de sols russes (tableau XCVIII) montrent que ceux-ci se classent en général dans l'ordre suivant : podzol > chernozem et sol châtain (sierozem) > sol rouge méditerranéen (krasnozem).

e) **Rôle dans le sol.** — Le rôle dans le sol des micro-organismes producteurs d'antibiotiques est très controversé. Pour certains chercheurs, l'antibiotisme serait un facteur essentiel de la régulation de l'équilibre biologique dans le sol ; pour d'autres, au contraire, l'antibiotisme ne jouerait qu'un rôle secondaire : ce ne serait qu'un phénomène de boîte de Petri.

Les auteurs qui minimisent le rôle des antibiotiques dans les sols fondent leur opinion sur la non-dominance des micro-organismes producteurs d'antibiotiques, sur la teneur faible ou nulle de la plupart des sols en antibiotiques, sur l'existence des processus d'inactivation. Nous examinerons successivement ces faits et nous en discuterons l'interprétation.

1° **Malgré leur densité élevée dans le sol, les micro-organismes producteurs d'antibiotiques ne constituent pas une fraction majoritaire de la population.** — Bien plus, les espèces numériquement les mieux représentées sont souvent des espèces très sensibles aux antibiotiques. On pourrait déduire de ce fait que l'antibiotisme ne s'exerce pas dans le sol. Cette interprétation n'est pas entièrement valable car elle ne tient pas compte du cloisonnement du sol en microhabitats indépendants permettant à des colonies de micro-organismes sensibles de se développer sans craindre l'action d'antibiotiques sécrétés par des colonies antagonistes dont elles sont séparées par une distance relativement élevée (à l'échelle des micro-organismes) ou par une barrière physique quelque interdisant la diffusion du produit toxique.

2° **La teneur en antibiotiques de la plupart des sols non organiques est faible ou nulle.** — On pourrait déduire de ce fait que, dans les sols non organiques, la production d'antibiotiques est insignifiante ou nulle. En fait, cette interprétation doit être nuancée par les deux remarques suivantes :

a) L'on admet actuellement que, par suite du cloisonnement du sol en microhabitats, les antibiotiques se trouvent à des concentrations relativement élevées seulement dans

les microhabitats favorables à une production intense alors qu'ils sont inexistants dans toutes les autres régions du sol. Comme le volume des microhabitats favorables représente une fraction très faible du volume total du sol, et comme l'extraction chimique porte sur la totalité du volume du sol et non pas uniquement sur les microsites de production, il y a, lors de cette extraction, dilution des antibiotiques, d'où difficulté à les mettre en évidence. WRIGHT (1956) a vérifié expérimentalement la possibilité d'une production appréciable de divers antibiotiques (gliotoxine, fréquentine, acide gladiolique) sur des graines de Moutarde, Blé ou Pois enfouies dans le sol après avoir été inoculées avec *Trichoderma viride*, *Penicillium frequentens*, *P. gladioli*.

b) La détermination de la teneur en antibiotiques d'un sol renseigne uniquement sur la production *nette* de ces substances et non sur la production brute, qui peut être beaucoup plus importante.

3° Les antibiotiques sont inactivés dans le sol par des processus multiples : 1. de nature physique : lessivage, adsorption par les colloïdes argileux dans le cas des antibiotiques cationiques (cf. p. 466) ; 2. de nature chimique : décomposition ; 3. de nature biologique : biodégradation. Mais l'inactivation par adsorption sur les colloïdes argileux n'est pas toujours aussi importante qu'on peut le supposer, car une désorption lente est toujours possible. Quant à la biodégradation des antibiotiques dans le sol, elle est parfois rapide ; mais elle peut aussi être discrète. C'est le cas des antibiotiques dont la structure moléculaire résiste à la biodégradation ; c'est aussi le cas des antibiotiques qui s'accumulent dans des milieux où l'activité microbiologique est peu intense, tels les sols podzoliques (cf. tableau IC). L'argument de l'inactivation des antibiotiques ne peut donc être retenu dans tous les cas.

De la présente discussion, il ressort que le phénomène d'antibiotisme joue un rôle indiscutable en particulier : 1° dans les sols riches en substances organiques conve-

TABLEAU IC. — DURÉE DE CONSERVATION DE DIFFÉRENTS ANTIBIOTIQUES
DANS UN SOL BIOLOGIQUEMENT PEU ACTIF (SOL PODZOLIQUE)
ET DANS UN SOL BIOLOGIQUEMENT ACTIF (CHERNOZEM)
(KRASILNIKOV, 1965)

ANTIBIOTIQUES	DURÉE DE LA CONSERVATION EN JOURS	
	<i>Sol podzolique</i>	<i>Chernozem</i>
Gliotoxine	30	20
Griséofulvine	90	20
Patuline	30	10
Terramycine	20	5
Pénicilline	5	2
Subtiline	60	20
Streptomycine	40	10
Viridine	10	3

nables ; 2° au niveau de certains microhabitats particulièrement favorables au développement des micro-organismes producteurs et notamment dans la rhizosphère. On a cherché à stimuler ce phénomène pour lutter contre les micro-organismes phytopathogènes : des résultats encourageants ont été obtenus et il est permis de penser que cette méthode de lutte biologique connaîtra à l'avenir des développements intéressants (cf. p. 712).

f) **Effet des antibiotiques sur les plantes supérieures.** — L'effet des antibiotiques synthétisés dans le sol s'exerce non seulement vis-à-vis des micro-organismes eux-mêmes mais s'applique également aux plantes supérieures. Cet effet peut être *indirect* : il résulte de modifications de l'équilibre biologique que l'on vient d'examiner. Il peut être aussi *direct*, les plantes supérieures pouvant absorber les antibiotiques, même lorsque ceux-ci se trouvent à l'état adsorbé sur les colloïdes argileux. Cet aspect de la question des antibiotiques a déjà été traité à propos de l'influence de la microflore sur la végétation (p. 569).

3° Enzymes lytiques

Contrairement à LLOYD (cf. p. 693), certains auteurs admettent que divers micro-organismes exerceraient leurs propriétés antagonistes non pas à l'aide d'antibiotiques, mais par l'intermédiaire d'enzymes extracellulaires qui lysent les cellules des micro-organismes sensibles, qu'ils peuvent alors utiliser comme aliment. Ce type d'antagonisme se rapproche considérablement de la prédation, dont il ne diffère que par le fait qu'il n'y a pas ingestion, par l'organisme prédateur, du corps du micro-organisme sensible. Par contre, la lyse enzymatique diffère de la lyse phagique évoquée à propos des virus, qui est une forme de parasitisme typique ; elle diffère aussi de l'autolyse pouvant résulter de l'action d'antibiotiques.

Les enzymes lytiques synthétisées par les micro-organismes telluriques sont encore mal connues. On sait toutefois que certains mycéliums fongiques et des cellules de Levure peuvent subir l'érosion enzymatique de la *chitinase* synthétisée par des *Bactéries* ou *Actinomycètes mycolytiques*. Ce phénomène s'explique par le fait que les parois cellulaires de nombreux Champignons renferment de la chitine, substance constituée d'une longue chaîne d'amino-sucres polymérisés. D'autres enzymes interviennent dans la destruction des parois cellulaires fongiques. La lyse des parois cellulaires d'*Aspergillus oryzae* par *Bacillus circulans* met en jeu deux enzymes : une chitinase et une enzyme lysant le polymère du mélibiose qui enveloppe la chitine (HORIKOSHI et IIDA, 1958). MITCHELL et ALEXANDER (1963) ont démontré de leur côté que la lyse du *Fusarium oxysporum* était non seulement le fait de la chitinase mais aussi d'une glucanase et d'une ou plusieurs autres enzymes non encore déterminées.

A côté des Eubactéries et Actinomycètes mycolytiques, il existe des micro-organismes doués d'une grande activité lytique : Myxobactéries et Myxomycètes qui s'attaquent non seulement à divers éléments de la microflore, mais aussi à la microfaune et, en particulier, aux Nématodes (KATZNELSON et coll., 1964).

4° Théorie de l'induction de la mycostase par des substances inhibitrices (mycostatiques)

De nombreux auteurs estiment que la mycostase résulterait de l'action sur les spores de substances inhibitrices d'origine microbienne. Pour vérifier cette hypothèse, on a cherché à extraire des sols ces substances et on a testé leur activité mycostatique. Mais ces extraits se sont révélés inefficaces ou très peu efficaces toutes les fois qu'on les a utilisés après stérilisation par filtration. D'autres expériences ont montré qu'après avoir fait disparaître la mycostase dans un sol par stérilisation, on peut restaurer cette mycostase par réensemencement avec divers micro-organismes ; mais cette restauration de la mycostase peut être obtenue aussi bien avec des micro-organismes producteurs qu'avec des micro-organismes non producteurs de substances inhibitrices.

On pourrait donc penser, avec LOCKWOOD (1964), que le rôle des substances inhibitrices dans le phénomène de mycostase est insignifiant ; mais il est encore trop tôt pour émettre une opinion définitive sur ce point. Le fait de n'avoir obtenu, jusqu'à présent, que des extraits à faible pouvoir mycostatique ne signifie nullement que les substances mycostatiques sont inactives *dans le sol*. En effet, comme on le suppose pour les antibiotiques, elles pourraient agir au niveau de certains habitats où leur concentration locale est suffisante : dans le cas qui nous intéresse ici les microhabitats sont constitués par la surface même des spores, dont les exsudats stimulent la prolifération des Bactéries et Actinomycètes (GARRETT, 1965).

On notera en outre que les substances mycostatiques pourraient s'avérer *in situ* efficaces, *même à très faible concentration*, car, dans le sol, les conditions de croissance, qui sont souvent médiocres, favorisent les effets inhibiteurs (GARRETT, 1956). Enfin, certaines substances mycostatiques, bien que difficilement désorbables, pourraient agir, dans les sols humides, par un mécanisme lent d'échange.

E. — PRÉDATION ET PARASITISME

La prédation et le parasitisme constituent deux modes d'antagonisme qui consistent dans l'attaque directe d'un micro-organisme par un autre dans un but nutritionnel.

a) **La prédation.** — Elle peut impliquer ou non l'ingestion de la proie : l'ingestion est de règle chez les *prédateurs holozoïques* (par ex. : Protozoaires holozoïques, Myxomycètes holozoïques). L'ingestion n'a pas lieu chez les *prédateurs lytiques* (par ex. : Champignons prédateurs, Myxobactéries, Myxomycètes) : ceux-ci détruisent leur proie par émission d'enzymes lytiques avant de l'assimiler.

Les prédateurs lytiques ne constituent qu'une partie des micro-organismes lytiques, car ceux-ci comprennent d'une part les micro-organismes lytiques prédateurs, qui uti-

lisent obligatoirement les produits de la lyse de leur proie pour subsister, d'autre part, des micro-organismes lytiques non prédateurs, qui induisent une lyse du micro-organisme sensible sans que cette lyse présente un caractère nutritionnel.

Le problème des micro-organismes capables de lyser des Bactéries, Actinomycètes ou Champignons, a été évoqué au paragraphe précédent ; nous n'y reviendrons pas. Quant aux Champignons prédateurs des Protozoaires ou de Nématodes, ils seront étudiés au chapitre consacré aux interactions entre la microflore et la microfaune ; on indiquera seulement ici que l'attaque des Protozoaires (qui sont en général des Amibes) consiste dans la pénétration d'une hyphe fongique à l'intérieur de la cellule du Protozoaire, suivie de la digestion et de l'assimilation de son contenu protoplasmique.

b) Le parasitisme. — Il est caractérisé par le fait que l'élément attaqué (hôte) reste vivant, au moins pendant un certain temps.

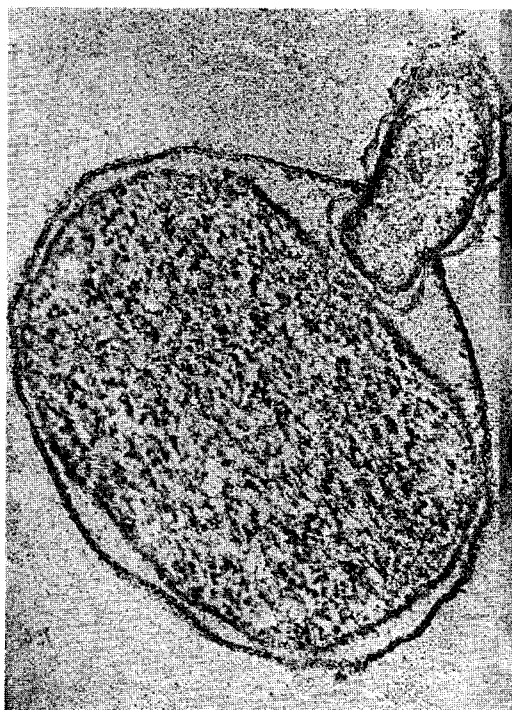
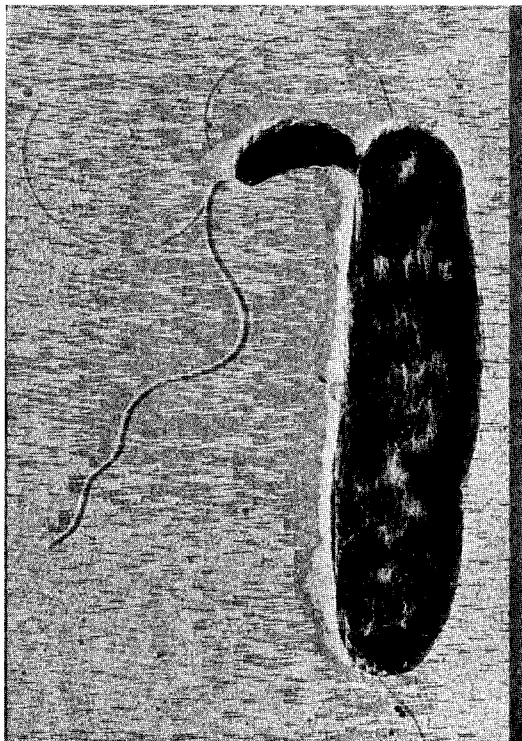


FIG. 177. — *Bdellovibrio bacteriovorus* parasitant une cellule de *Pseudomonas phaseolicola* (en haut) ($\times 20\,000$) ou de *Pseudomonas fluorescens* (en bas) ($\times 66\,000$) (STOLP, 1968).

1° Parasitisme chez les Champignons. — Les Champignons peuvent être parasités par d'autres Champignons. Cette forme de parasitisme a reçu le nom de *mycoparasitisme*, l'agent parasite s'appelant mycoparasite ou hyperparasite. On ne connaît aucun cas de parasitisme de Champignons vivants, intacts, par des Bactéries (BOOSALIS et MANKAU, 1965).

2° Parasitisme chez les Bactéries. — Les Bactéries peuvent être parasitées par d'autres Bactéries : STOLP (1968) a ainsi démontré qu'un *Vibrio* (*Bdellovibrio bacteriovorus*) s'attaque à de nombreux *Pseudomonas* et à diverses espèces de *Xanthomonas* en se fixant par son pôle non flagellé à la surface des cellules sensibles chez lesquelles il provoque la lyse (fig. 177). Ce mode de parasitisme pourrait être assez répandu dans le sol (KLEIN et CASIDA, 1967).

L'attaque des Bactéries par les bactériophages constitue également un cas de parasitisme typique, qui a été évoqué antérieurement.

On examinera seulement ici le problème des Protozoaires holozoïques et celui des Champignons mycoparasites.

1° Protozoaires holozoïques

Les Protozoaires holozoïques se nourrissent par ingestion de micro-organismes très divers : Bactéries, Algues, Levures et cellules d'autres Protozoaires. La proie, une fois ingérée, est entourée d'une vacuole, où a lieu la digestion sous l'effet d'enzymes très variées. Les déchets inutilisés sont ensuite excrétés.

On sait depuis longtemps que les Protozoaires ont des préférences nutritionnelles très nettes. A l'intérieur d'un même groupe bactérien, un Protozoaire donné choisit certaines espèces plutôt que d'autres. Il existe trois types de proies, celles qui sont complètement utilisées, celles qui le sont partiellement et celles qui ne le sont pas du tout.

La consommation de Bactéries par les Protozoaires est très élevée ; on a calculé qu'une espèce de *Sarcodina* a besoin d'ingérer 40 000 Bactéries entre deux divisions cellulaires. L'on pourrait donc s'attendre à une disparition rapide de la microflore bactérienne en présence de Protozoaires. En fait, il s'établit un équilibre qui limite la prolifération des Protozoaires et l'activité bactérienne peut même être stimulée (cf. p. 68).

2° Mycoparasites

On distingue deux groupes de mycoparasites suivant leur effet sur l'hôte :

- les mycoparasites destructeurs dont l'attaque aboutit à la mort de l'hôte ;
- les mycoparasites dont l'attaque provoque seulement des dommages peu importants ou insignifiants.

Il ne sera question ici que des mycoparasites destructeurs : pour plus de détails concernant le mycoparasitisme, on consultera les revues de BARNETT (1963) et BOOSALIS et MANKAU (1965).

a) Mode d'action des mycoparasites. — LA PREMIÈRE PHASE de l'attaque consiste soit dans la pénétration directe du parasite dans l'hyphé de l'hôte, soit dans une strangulation suivie ou non d'une pénétration. Des attaques de ce type ont été notées d'une part entre *Rhizoctonia solani* (mycoparasite) et divers hôtes, d'autre part entre *Penicillium vermiculatum* (mycoparasite) et *Rhizoctonia solani* jouant cette fois le rôle d'hôte.

DANS UNE DEUXIÈME PHASE, il peut y avoir développement de mycéliums infectieux à l'intérieur de l'hyphé parasité : tel est le cas de *Penicillium vermiculatum* lorsqu'il s'installe dans les hyphes de *R. solani*. L'hôte se défend parfois par formation d'une *barrière mécanique* contre le développement des hyphes internes du mycoparasite ou par lyse de ces hyphes.

DANS UNE DERNIÈRE PHASE, on observe, en général, une désintégration du protoplasme de l'hôte.

En dehors des hyphes, les mycoparasites peuvent s'attaquer à d'autres structures : conidies, sporangiophores, oogones, oospores, chlamydospores, zoospores, sclérotés.

La sensibilité de l'hôte dépend de son âge, les jeunes étant plus facilement parasités. La virulence du parasite semble varier considérablement d'une souche à l'autre.

b) Facteurs de l'environnement régissant le mycoparasitisme. — Le facteur nutritionnel joue un rôle primordial : la composition du substrat sur lequel se développe l'hôte favorise ou inhibe l'attaque parasitaire. Ainsi *Mucor recurvus* est parasité par *Rhizoctonia solani* lorsqu'il est cultivé sur un milieu minéral contenant un hexose ; mais l'infection est très discrète ou même inexistante sur des substrats à base de pentose, galactose, lactose ou cellobiose.

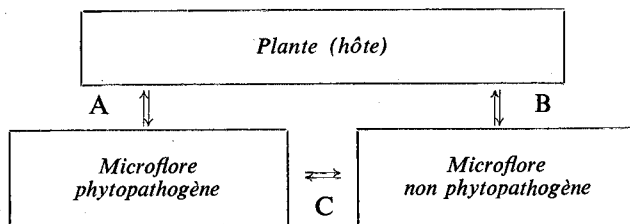
Une température de 25 à 30 °C favorise en général le mycoparasitisme. Le pH exerce un effet marqué ; ainsi le parasitisme de *Pythium debaryanum* et *P. butleri* par *R. solani* est inhibé dans la zone de pH comprise entre 6,7 et 7,1, mais se manifeste à un pH inférieur (5,5) ou supérieur (7,7).

c) Rôle des mycoparasites dans le sol. — Si l'on connaît des cas bien précis de mycoparasitisme dans le sol, on en ignore par contre la fréquence. Il est donc impossible, dans l'état actuel de nos connaissances, de préciser l'importance pratique de ce type d'antagonisme.

F. — APPLICATION AU CONTRÔLE BIOLOGIQUE DES MICRO-ORGANISMES PATHOGÈNES DES RACINES ⁽¹⁾

L'écologie des micro-organismes phytopathogènes des racines est beaucoup plus complexe que l'écologie des micro-organismes phytopathogènes des organes aériens, car, en dehors des *interactions* (A) entre la plante (hôte) et le micro-organisme phytopathogène (parasite), elle fait intervenir des *interactions* (B) entre la plante (hôte) et la microflore tellurique non phytopathogène (microflore saprophyte) et des *interactions* (C) entre la microflore tellurique non phytopathogène elle-même et les micro-organismes phytopathogènes.

Dans une excellente revue sur ce problème, PARK (1963) symbolise comme suit ce système d'interactions :



Seules, nous intéressent, sur le plan de la biologie des sols, les interactions (B) et (C) que nous avons déjà analysées antérieurement, mais qu'il est nécessaire d'évoquer à nouveau rapidement.

1° Considérations générales sur les interactions entre la plante-hôte, la microflore phytopathogène et la microflore non phytopathogène

a) *Interactions entre la plante et la microflore tellurique.* — Ces interactions sont particulièrement intenses au niveau de la rhizosphère.

1° *Influence de la plante sur la microflore tellurique.* — Par l'intermédiaire de ses exsudats racinaires (effet rhizosphérique), la plante modifie l'équilibre de la microflore dans la rhizosphère. Il peut y avoir ou non stimulation de la microflore antagoniste

(1) Il ne sera question ici que du contrôle biologique direct ou indirect des maladies des racines. Les autres méthodes de lutte contre les parasites sortent du cadre de cet ouvrage.

« Contrôle biologique » et « lutte biologique » sont synonymes.

d'un pathogène et, éventuellement, action directe (favorable ou non) sur le pathogène lui-même.

Par l'intermédiaire des tissus morts (débris racinaires, litières), la plante influe considérablement sur la micropopulation non pathogène et pathogène du sol, cette action pouvant se traduire directement ou indirectement par une conservation et même une stimulation du pathogène ou inversement sa récession.

2° Influence de la microflore tellurique sur la plante. — On a vu que cette influence peut être favorable (par exemple : synthèse de substances susceptibles de stimuler la croissance de la plante ; minéralisation d'éléments préexistant sous des formes organiques inassimilables) ou défavorable (par exemple : synthèse de substances phytotoxiques ; immobilisation d'éléments minéraux).

b) Interactions entre la microflore phytopathogène et la microflore tellurique non phytopathogène. — **1° Influence des micro-organismes phytopathogènes sur la microflore tellurique non phytopathogène.** — Cette influence est en général négligeable, car, dans le sol, les micro-organismes phytopathogènes sont peu nombreux par rapport aux micro-organismes telluriques non phytopathogènes. Cependant elle se manifeste discrètement ou très localement dans les conditions suivantes :

a) A proximité immédiate des hyphes des micro-organismes phytopathogènes, dans le microhabitat appelé *hyphosphère*, par analogie avec le microhabitat rhizosphérique, il peut y avoir stimulation des micro-organismes telluriques : les hyphes de *Rhizoctonia solani* exercent une telle stimulation en faveur de divers Actinomycètes ; il en est de même à proximité des spores dans le microhabitat parfois appelé *sporosphère* (LOCKWOOD, 1968).

b) Les cellules mortes du micro-organisme phytopathogène peuvent servir de substrat pour certains micro-organismes telluriques saprophytes ; vivantes, elles peuvent héberger des hyperparasites.

c) Les micro-organismes phytopathogènes présentant un pouvoir compétitif très élevé vis-à-vis de la microflore tellurique peuvent en modifier l'équilibre biologique.

L'action d'un micro-organisme phytopathogène est plus spectaculaire quand elle s'exerce envers un autre micro-organisme phytopathogène, cette action pouvant présenter un caractère antagoniste ou bénéficiel. Les exemples d'antagonismes entre les micro-organismes phytopathogènes ne sont pas exceptionnels ; ainsi, *Fusarium solani*, pathogène peu virulent d'*Ipomea batatas*, protège cette plante contre une infection ultérieure virulente de *F. oxysporum* aussi bien en serre qu'au champ (PARK, 1963). Inversement, l'établissement d'associations synergiques phytopathogènes provoque l'aggravation des infections chez les plantes (cf. p. 686).

2° Influence de la microflore tellurique non phytopathogène sur la microflore phytopathogène. — Il est bien connu : 1. que les micro-organismes phytopathogènes sont plus virulents dans les sols stériles que dans les sols non stériles ; 2. que la virulence des

micro-organismes phytopathogènes introduits dans un sol stérile est très sensiblement atténuée lorsqu'on inocule en même temps des micro-organismes non pathogènes. Ces faits s'expliquent par l'existence ou l'apparition d'interactions de nature antagoniste entre la microflore tellurique et les micro-organismes pathogènes.

Nous ne reviendrons pas sur les différents types d'interactions qui ont été étudiés au début de ce chapitre. Nous attirerons seulement l'attention sur la notion d'aptitude à la compétition chez les micro-organismes phytopathogènes ; à ce point de vue, l'on peut distinguer deux catégories de micro-organismes :

a) *Les micro-organismes phytopathogènes inaptes à la compétition saprophytique.* Ce sont les *soil invaders* ou *root inhabitants* des auteurs anglo-saxons (GARRETT, 1963). Ces micro-organismes ne peuvent se maintenir dans le sol que sur les débris de l'hôte mort, où ils se heurtent à la concurrence de la microflore tellurique, qui les élimine plus ou moins rapidement. Rentrent dans cette catégorie : *Ophiobolus graminis*, *Helminthosporium sativum*, *Didymella lycopersici*, *Sclerotium cepivorum*, *Verticillium albo-atrum*.

b) *Les micro-organismes phytopathogènes aptes à la compétition saprophytique.* Ce sont les *soil inhabitants* des auteurs anglo-saxons. En dehors de leur phase parasitaire, ces micro-organismes se comportent en saprophytes et se maintiennent longtemps dans le sol en l'absence de la plante-hôte. Rentrent dans cette catégorie : *Fusarium culmorum*, *Fusarium solani*, *Phytophthora cactorum*, *Rhizoctonia solani*. Ce dernier Champignon, très répandu, présente un grand intérêt à la fois dans sa phase *saprophytique*, car c'est un colonisateur actif de la matière organique fraîche, et dans sa phase *parasitaire*, car il attaque plus de 200 espèces végétales (DAVEY et PAPAVIDAS, 1963).

Entre ces deux types extrêmes, se placent des types intermédiaires représentés, par exemple, par *Fusarium oxysporum* et *Pythium mamillatum*, qui se maintiennent sur les résidus végétaux un peu plus longtemps que les micro-organismes du premier groupe ou qui survivent en tant que commensaux dans la rhizosphère (PARK, 1963).

2° Méthodes de lutte biologique

a) *Inoculation avec des micro-organismes antagonistes.* — Le principe de la méthode est simple : il consiste à préparer une culture de micro-organismes antagonistes du micro-organisme phytopathogène que l'on cherche à éliminer, et à inoculer cette culture dans le sol, sur les tissus ou sur les graines de la plante que l'on veut protéger. Mais les applications d'une telle méthode sont limitées. Il est, en effet, une règle fondamentale d'écologie d'après laquelle l'augmentation artificielle de la densité d'une espèce dans un système biologique complexe modifie seulement temporairement l'équilibre de ce système, qui est essentiellement sous la dépendance des conditions de l'environnement. Le retour à l'équilibre biologique initial est très rapide dans le cas qui nous intéresse, car le temps de génération des micro-organismes est particulièrement court (GARRETT, 1965).

Les échecs de la méthode d'inoculation sont donc nombreux et dus essentiellement à la disparition prématurée de l'inoculum antagoniste. C'est ainsi que, jusqu'à présent, on n'est pas parvenu à juguler la maladie de Panama (wilt du Bananier) par inoculation de micro-organismes antagonistes (MITCHELL et ALEXANDER, 1961).

On a signalé cependant un certain nombre de résultats positifs notamment dans le cas de l'inoculation des graines et des tissus végétaux. A l'occasion de l'étude de la bactérisation des semences, on a noté que l'effet favorable de cette pratique pouvait parfois être attribuée à la protection de la plante contre l'attaque de micro-organismes phytopathogènes par l'installation dans la rhizosphère d'une microflore bactérienne antagoniste. Il a été aussi fait appel à des *Champignons antagonistes* : WRIGHT (1956) a ainsi protégé des semences de Moutarde contre l'infection par un *Pythium* en les enrobant de spores de *Trichoderma viride*, *Penicillium nigricans*, *P. frequentans*, *P. godlewskii*.

L'inoculation de tissus végétaux a été couronnée de succès dans la lutte contre *Fomes annosus*, Champignon qui colonise les souches de Pin après leur abattage. Pour protéger ces souches, RISHBETH (1952, 1963) les inocule avec une suspension de spores d'un autre Basidiomycète : *Peniophora gigantea*, espèce indigène qui élimine facilement *F. annosus* grâce à son pouvoir compétitif élevé. L'application de suspensions de spores de *P. gigantea* est au moins aussi efficace que l'application de produits chimiques.

L'inoculation du sol lui-même se révèle efficace seulement lorsque les conditions écologiques sont favorables à une installation définitive ou tout au moins prolongée de l'antagoniste ; pour obtenir ce résultat, il est souvent nécessaire d'amender le sol ou d'en modifier le pH. Ainsi, il s'est avéré nécessaire de conjuguer l'inoculation de *Trichoderma viride* avec un amendement à base de farine de Maïs pour obtenir l'élimination de *Rhizoctonia solani* et de *Streptomyces scabies* (BOER, 1962). Il a fallu acidifier le sol préalablement à son inoculation avec *T. viride* pour protéger des plants d'agrumes contre les attaques de *Rhizoctonia solani* ; cette précaution n'a d'ailleurs pas toujours été suffisante pour éliminer le Champignon pathogène. Une telle façon de procéder constitue en fait une méthode mixte fondée à la fois sur le principe de l'inoculation directe, que nous venons d'exposer, et sur le principe de l'incorporation au sol d'un amendement, que nous allons examiner au paragraphe suivant.

b) Apport d'amendements. — Cette méthode dont le but est de modifier certaines caractéristiques physiques et chimiques de l'environnement, est certainement promise à un avenir plus brillant que la méthode d'inoculation simple, car elle est conforme à l'axiome écologique fondamental suivant lequel la composition, la densité et l'activité des micropopulations telluriques sont déterminées par les conditions de l'habitat.

Nous examinerons successivement le cas de l'application d'amendements organiques complexes et celui d'amendements avec des substances entrant dans la composition des parois cellulaires des micro-organismes phytopathogènes.

1° **Amendements organiques complexes.** — Ces amendements qui, en général, consistent en fumiers, engrais verts ou résidus de récolte enfouis par labour, se sont souvent révélés capables d'éliminer les micro-organismes phytopathogènes appartenant aux genres et espèces suivants : *Streptomyces scabies* (Pomme de terre), *Ophiobolus* (Blé), *Phymatotrichum* (Coton), *Rhizoctonia* (Pomme de terre, Laitue, Haricot, Fraisier), *Helminthosporium* (céréales), *Fusarium* (céréales, Coton, Haricot, Bananier), *Verticillium* (Tomate), *Phytophthora* (Avocatier), *Aphanomyces* (Pois) (STOVER, 1962) ; des résultats favorables ont parfois été obtenus dans la lutte contre les Nématodes (cf. p. 718).

On peut expliquer l'effet protecteur des amendements organiques par l'un et/ou l'autre des mécanismes suivants :

- stimulation de la microflore antagoniste du micro-organisme phytopathogène ;
- réduction de l'activité ou de la survie du micro-organisme phytopathogène par action directe de l'amendement ;
- accroissement de la résistance de la plante-hôte par amélioration de sa nutrition.

a) *Stimulation de la microflore antagoniste.* — La microflore saprophyte tellurique stimulée par l'amendement organique peut intervenir simplement en augmentant la teneur du sol en CO_2 : on admet que le contrôle d'*Ophiobolus graminis* et de *Rhizoctonia solani* par les amendements organiques résulte pour une bonne part de l'accroissement de la concentration en CO_2 dans la rhizosphère à la suite du développement de l'activité biologique globale (fig. 176).

— La microflore antagoniste peut éliminer le micro-organisme phytopathogène par l'intermédiaire des antibiotiques qu'il synthétise : tel est le cas de *Trichoderma viride*, producteur d'antibiotiques actifs (gliotoxine et viridine) mais efficaces seulement dans des sols acides (cf. p. 715).

— Lors de l'incorporation d'amendements à C/N élevé, la microflore saprophyte tellurique peut éliminer, par compétition nutritive vis-à-vis de l'azote minéral, les micro-organismes phytopathogènes peu compétitifs tels que *Ophiobolus graminis*, *Helminthosporium sativum*, *Cercospora herpotrichoides* (GARRETT, 1965).

b) *Réduction de l'activité ou de la survie du micro-organisme phytopathogène.* — Sans qu'il y ait intervention de processus antagonistes, l'amendement organique peut agir directement sur le micro-organisme phytopathogène en provoquant par exemple sa germination par levée de la mycostase ; le micro-organisme pathogène ne se trouvant pas alors en contact avec les racines de l'hôte, est voué au dépérissement par lyse des tubes germinatifs. Le succès des amendements organiques dans la lutte contre la pourriture des racines du Coton s'explique par le fait que l'amendement stimule la germination des sclérotés de *Phymatotrichum omnivorum* en l'absence de la plante-hôte (MITCHELL et coll., 1941).

L'incorporation au sol d'amendements organiques peut, en outre, accélérer la disparition des débris végétaux constituant le refuge des parasites peu compétitifs.

TABLEAU C. — INFLUENCE D'APPORTS CROISSANTS DE CHITINE SUR L'INFECTION DE HARICOTS (*Phaseolus vulgaris*) PAR « *FUSARIUM SOLANI* F. *PHASEOLI* » (MITCHELL et ALEXANDER, 1961)

AMENDEMENTS EN CHITINE (kg/ha)	INDICE D'INFECTION DES HARICOTS
0	77
220	52
440	45
880	48
1 320	18

c) *Accroissement de la résistance de la plante-hôte à l'attaque parasitaire.* — Certains amendements accroissent la résistance des plantes aux infections, en améliorant leur nutrition : ce fait a été en particulier observé dans le cas de l'attaque des racines de Blé par *Ophiobolus graminis*, dans celui de la fusariose du Coton (STOVER, 1962). MACIEJOWSKA (1962) explique l'effet protecteur d'apport de cellulose vis-à-vis de *Rhizoctonia solani*, responsable du *damping-off* du Pommier, non seulement par le développement de l'antagonisme de la microflore cellulolytique à l'encontre du *Rhizoctonia* et par la diminution de la virulence de ce micro-organisme pathogène sur substrat cellulosique, mais aussi par la stimulation de la plante par des sous-produits du métabolisme microbien.

L'interprétation des expériences sur les amendements organiques doit tenir compte non seulement des phénomènes d'antagonisme que nous venons de rappeler aux paragraphes a et b ci-dessus, mais aussi des processus évoqués au paragraphe c. Ces derniers processus, qui n'impliquent nullement l'intervention d'antagonismes microbiens, ne sauraient rentrer dans le cadre de la lutte biologique *sensu stricto*.

2° *Amendements effectués avec des substances entrant dans la composition des parois cellulaires des micro-organismes phytopathogènes.* — Partant de l'idée fondamentale en écologie microbienne qu'un enrichissement du sol en une substance donnée favorise électivement les micro-organismes dégradant cette substance, MITCHELL et ALEXANDER (1961) et MITCHELL (1963b) préconisent l'application d'amendements avec les substances mêmes qui entrent dans la composition des parois cellulaires des Champignons phytopathogènes que l'on cherche à éliminer. Ainsi, en incorporant au sol de la chitine, MITCHELL et ALEXANDER (1961) sont parvenus à faire régresser sensiblement *Fusarium solani*, Champignon phytopathogène dont la paroi cellulaire est riche en chitine (tableau C). Des résultats du même ordre ont été obtenus avec la laminarine dans la lutte contre le même Champignon (*Fusarium solani*). La laminarine s'avère, par contre, sans effet vis-à-vis de *Pythium debaryanum* ou *Agrobacterium tumefaciens*, micro-organismes dont la paroi cellulaire ne renferme ni laminarine ni polysaccharide à

structure chimique voisine, contrairement à *Fusarium solani*. Dans le cas de l'amendement à base de chitine, la régression des micro-organismes phytopathogènes est liée : 1° à la stimulation de la microflore synthétisant des antibiotiques (Actinomycètes) ; 2° à la stimulation de la microflore lytique productrice de chitinase. Dans le cas de l'application de laminarine, seule la microflore lytique semblerait intervenir.

L'efficacité des applications de chitine dans la protection des végétaux contre les *Fusarium* a été vérifiée par BUXTON et coll. (1965), qui attribuent l'effet favorable de cet amendement à une stimulation des Actinomycètes antagonistes.

3° Nécessité d'un contact entre les micro-organismes antagonistes. — Une condition primordiale de succès de l'action antagoniste des micro-organismes stimulés par l'amendement réside dans le développement de leur activité à proximité immédiate et éventuellement en contact avec le micro-organisme pathogène, car, à l'exception des formes gazeuses (CO_2 en particulier), la diffusion de substances antagonistes est limitée, qu'il s'agisse d'antibiotiques ou d'enzymes lytiques ; les phénomènes de compétition ne se manifestent également dans le sol que si les micro-organismes concurrents sont voisins.

On doit donc s'attendre à des échecs lorsque le micro-organisme pathogène est protégé de l'action de l'antagoniste par une barrière telle que celle qui est constituée par les tissus de l'hôte, même si ces derniers sont morts. Il en est de même lorsque l'amendement, qui sert de substrat aux antagonistes, n'est pas en contact avec le micro-organisme pathogène, par suite d'un mélange insuffisant de l'amendement et du sol. STOVER (1962) insiste sur les difficultés pratiques (labours profonds, emploi de rotavateurs) que soulève au champ ce problème facile à résoudre au laboratoire. Pour éviter cet inconvénient, il suffit simplement d'apporter l'amendement localement autour des graines au moment de leur semis ; ainsi en appliquant du fumier uniquement à proximité des poquets de Haricots, on parvient, dans certains sols ferrallitiques des Hauts-Plateaux de Madagascar, à juguler les attaques d'*Heterodera* (DÉNARIÉ, 1968).

4° Durée de l'effet de l'amendement. — L'étude dans le temps de l'action antagoniste a révélé que celle-ci ne se manifeste que pendant la période relativement courte (un ou deux mois) qui correspond au pic d'activité microbienne consécutif à l'application de matière organique dans le sol. L'efficacité de l'amendement est maximale une à trois semaines après son incorporation s'il s'agit d'amendements facilement décomposables ou après trois à sept semaines s'il s'agit d'amendements plus résistants à la décomposition. En conséquence, si l'on a réussi à protéger par un amendement une culture sensible, une deuxième culture sensible installée sur le même sol n'est plus à l'abri de l'attaque parasitaire.

c) Stérilisation partielle par traitement chimique ou thermique. — La stérilisation partielle du sol par un agent chimique ou par la chaleur peut favoriser la multiplication spontanée ou l'installation par inoculation du micro-organisme antagoniste du phytopathogène à éliminer. Nous en donnerons un exemple classique concernant l'élimination d'*Armillaria mellea* après un traitement au sulfure de carbone. En

1951, BLISS constate que la fumigation d'un sol infesté par *Armillaria mellea* avec du sulfure de carbone aboutit à la disparition de ce Champignon pathogène : mais cette disparition n'est complète que 24 jours après la fumigation. D'autre part, BLISS observe une colonisation massive du sol traité par *Trichoderma viride*. Il en déduit qu'*A. mellea* a disparu, non sous l'effet direct du sulfure de carbone, mais victime de l'antagonisme de *T. viride*. Ces résultats ont été confirmés en grande partie par divers auteurs, qui sont arrivés à la conclusion : 1° que le traitement chimique exerce dans ces conditions une action fongicide sur *A. mellea*, mais que cette action est complétée par l'antagonisme de *T. viride* ; 2° que la recolonisation massive du sol par *T. viride* est due à une croissance très rapide de ce Champignon pourtant relativement sensible au sulfure de carbone ; 3° que cette recolonisation aboutit à un potentiel d'inoculum considérable, qui assure l'hégémonie de *T. viride*.

Si l'on peut donc espérer la mise au point, dans un avenir plus ou moins rapproché, de produits fongicides à double action (c'est-à-dire éliminant le micro-organisme pathogène et induisant secondairement une stimulation de la microflore antagoniste), il ne faut cependant pas se faire d'illusions, car il peut surgir des complications du type de celles qui ont été signalées à l'occasion de la désinfection du sol par le formol : ce produit élimine bien *Armillaria mellea* tout en laissant *Trichoderma viride* proliférer, mais un autre Champignon phytopathogène dangereux, *Pythium ultimum*, prolifère également (BOULLARD et MOREAU, 1962). Le but recherché n'est pas atteint.

Parallèlement aux traitements chimiques, on utilise avec un certain succès la stérilisation partielle par un mélange d'air et de vapeur d'eau (vapeur aérée) dont la température est réglable au niveau désiré au-dessous de 100 °C, alors que la vapeur fluante est toujours à 100 °C. Cette technique s'avère supérieure à la technique classique fondée sur l'emploi de vapeur fluante, car elle n'induit pas une toxicité aussi marquée vis-à-vis des plantes et elle permet de choisir la température de traitement qui donne les meilleurs résultats (BAKER et SNYDER, 1965 ; GARRETT, 1965). Le traitement à la vapeur aérée augmenterait sensiblement les chances de réussite de l'inoculation avec des micro-organismes producteurs d'antibiotiques (JACKSON, 1965b).

d) Mise en place de rotations culturales convenables. — Il est bien connu que certaines rotations accroissent les rendements agricoles en faisant régresser les attaques des micro-organismes phytopathogènes. Une littérature considérable est consacrée à ce problème et il ne saurait être question de l'analyser ici. Nous donnerons seulement trois exemples typiques faisant ressortir l'intérêt des rotations sur le plan phytosanitaire :

EXEMPLE 1. — L'introduction de Luzerne dans un assolement prévient l'expansion des maladies du Cotonnier. Cet effet favorable de la Luzerne serait dû, d'après KRASILNIKOV (1958), à la prolifération dans la rhizosphère de cette plante de micro-organismes mycologiques vis-à-vis de *Verticillium dahliae* et *Fusarium vasinfectum*, micro-organismes pathogènes du Cotonnier.

EXEMPLE 2. — L'introduction de l'Arachide dans l'assolement améliore également les conditions sanitaires de la culture du Cotonnier, vraisemblablement sous l'effet de la prolifération de micro-organismes antagonistes dans la rhizosphère de l'Arachide (KRASILNIKOV, 1968).

EXEMPLE 3. — L'introduction du Soja dans une rotation peut faire régresser la pourriture des racines de Fraisier (HILDENBRAND et WEST, cités par KRASILNIKOV, 1958).

Certaines cultures, par contre, peuvent provoquer, chez les plantes cultivées à leur suite, une recrudescence de l'attaque des pathogènes. HILDENBRAND et WEST (*loc. cit.*) ont ainsi noté l'extension de la pourriture des racines de Fraisiers cultivés à la suite de Trèfle rouge, de Maïs ou de *Phleum pratense*. Dans divers sols canadiens, la pourriture brunissante des céréales due à divers *Pythium* se manifeste avec virulence lorsque les céréales sont cultivées après une jachère : la raison en est que la jachère aggrave la déficience en phosphate. Pour éviter l'attaque parasitaire, il suffit de faire succéder la céréale à une autre culture, ou bien de corriger la déficience en phosphate (GARRETT, 1965).

Ces différents exemples montrent que la culture répétée d'une même plante sur un même sol favorise considérablement le développement des maladies des racines et qu'il est nécessaire de choisir avec le plus grand soin les rotations culturales que l'on doit appliquer dans un sol donné.

3° Conclusion

Si l'on commence à entrevoir quelques-uns des mécanismes qui aboutissent à l'élimination ou à la régression des attaques de micro-organismes phytopathogènes telluriques, une grande partie des travaux consacrés au contrôle biologique donne l'impression de porter sur une infinité de cas particuliers, d'où il est difficile de tirer des conclusions générales. La raison en est que le contrôle biologique des maladies des racines pose un nombre considérable de problèmes qui concernent non seulement les interactions entre les micro-organismes phytopathogènes et les micro-organismes saprophytes telluriques, mais aussi l'épidémiologie de la maladie et l'écologie de la plante considérée. Les phytopathologistes, les écologistes et physiologistes végétaux, les microbiologistes du sol devront donc conjuguer leurs efforts pour parvenir à élucider à la fois les mécanismes impliqués et les systèmes d'interactions complexes se manifestant entre la plante-hôte, le parasite et la microflore tellurique.

CHAPITRE III

INTERACTIONS DE LA MICROFLORE ET DE LA FAUNE DU SOL

Introduction. — Les populations du sol comprennent une faune plus ou moins abondante et variée dont les actions multiples interfèrent avec celles de la microflore. Aussi est-il impossible de traiter de l'écologie du sol sans tenir compte des animaux qu'il héberge.

Mais l'étude de la faune édaphique est un immense domaine qui possède ses lois et ses méthodes propres et dont nous ne pouvons traiter ici. Pour plus de détails on se référera à l'ouvrage en français de BACHELIER (1963).

Il est cependant indispensable que nous envisagions les effets complexes qu'exercent l'un sur l'autre les deux grands constituants de l'*édaphon* : faune et microflore.

Animaux et micro-organismes sont placés dans un même milieu, affrontés à des facteurs identiques auxquels ils semblent répondre de façon analogue si l'on s'en tient aux évaluations quantitatives. Ainsi MALDAGUE et HILGER (1963) comparent, dans quatre sols du Congo, les densités des populations de Micro-arthropodes, de Bactéries et de Champignons : ils concluent à l'existence de facteurs écologiques dominants (matière organique, humidité, microclimat du sol) dont les effets sont assez semblables sur la mésofaune et sur la microflore ; par contre, des facteurs secondaires (pH, porosité, apports d'aliments frais) ont une action plus spécifique. Par exemple, l'inondation périodique de la forêt insulaire s'accompagne d'une prolifération intense des Bactéries alors que le nombre des Micro-arthropodes est peu modifié.

Ainsi, sur le plan synécologique, les variations de la faune et de la microflore sont assez souvent parallèles et pourraient être attribuées au fait que les deux groupes d'organismes répondent de façon semblable aux facteurs écologiques.

Du point de vue de l'écologie dynamique, les interventions de la faune et de la microflore dans les cycles biogéochimiques sont, en général, de nature différente mais se complètent l'une l'autre en une synergie remarquable, nécessaire à une pédogenèse équilibrée.

Nous envisagerons quelques exemples de ces interactions, en choisissant les mieux connus ou ceux qui semblent les plus importants. Nous pourrions alors comparer entre elles ces activités différentes et complémentaires.

A. — INTERACTION DES NÉMATODES ET DE LA MICROFLORE

1° Action des Nématodes sur la microflore

Les Nématodes sont des Vers cylindriques, dépourvus de soies mais entourés d'une cuticule épaisse et dont la cavité buccale comporte des dents broyeuses ou un stylet suceur. Les espèces du sol sont relativement petites (0,4 à 2 mm de long) et peuvent se répartir en trois groupes nutritionnels.

a) *Nutrition*. — Certains Nématodes sont des *prédateurs* se nourrissant aux dépens de la faune du sol (Protozoaires, Tardigrades, autres Nématodes, etc.).

D'autres, qualifiés de *phytophages*, se rencontrent dans des organes souterrains atteints de pourriture, dont ils sont peut-être agents.

Ils se relient par des intermédiaires dont le rôle exact est difficile à déterminer à une troisième catégorie, la plus nombreuse dans les sols, et dont les représentants vivent dans les matières organiques en décomposition, les litières, les composts, les terres humides riches en débris végétaux.

Certaines espèces dites *saprophages* ingèrent ces débris mais leur nourriture est plus probablement constituée par les micro-organismes qui peuplent ceux-ci. Il est très facile d'obtenir des élevages de Nématodes et l'on peut les voir ramper au sein des mucilages bactériens qu'ils ingèrent sans cesse en même temps que les spores des Champignons : mais ces dernières paraissent être ensuite rejetées sans altérations. Il en est cependant de *mycophages* qui se nourrissent en enfonçant leurs stylets dans les hyphes. Ils pourraient même être plus nombreux qu'on ne le pensait puisque, selon MANKAU et MANKAU (1963), ils représentent, en Californie du Sud, de 7 à 50 % de l'ensemble des Nématodes du sol. D'autres encore paraissent se nourrir d'Algues ou d'Actinomycètes.

Diverses observations permettent de penser que leurs exigences alimentaires sont assez étroitement spécifiques : ainsi *Aphelenchus avenae* prolifère intensément dans les cultures pures de *Rhizoctonia*, *Verticillium*, *Fusarium*, qui sont des colonisateurs habituels de la surface des racines alors que des espèces plus communes dans les sols (*Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Rhizopus*) sont peu favorables. On a même envisagé l'utilisation des Nématodes comme agents de lutte contre un *Pythium* phytopathogène.

b) **Influence sur la microflore.** — Ce qui précède permet de leur attribuer un rôle régulateur, analogue à celui que jouent les Protozoaires. Mais sur ce point nos renseignements sont encore bien peu nombreux.

D'autre part leur mobilité leur permet d'intervenir dans la dissémination des Champignons et des Bactéries.

Enfin ils fragmentent les débris végétaux ramollis par la pourriture et les rejettent sous forme d'excréments. Certaines espèces même assurent un mélange intime de leurs déjections avec le sol. Leur action évoque alors, mais avec beaucoup moins d'efficacité, celle des Vers de terre et l'on peut donc supposer qu'elle exerce sur la microflore un effet stimulant analogue à celui que nous reconnaitrons aux Lombrics.

2° Action de la microflore sur les Nématodes

La microflore du sol exerce sur les Nématodes des effets attractifs ou répulsifs qui ont été étudiés par KATZNELSON et HENDERSON (1962, 1964) : deux espèces mycophages sont attirées par les cultures de la plupart des Champignons étudiés par ces auteurs ainsi que par certains Actinomycètes, même si elles ne les consomment pas, alors que les Bactéries ont souvent un effet répulsif. On peut donc se demander si les Nématodes ne sont pas attirés vers les racines en raison de la présence, à la surface de celles-ci, de Champignons, par exemple de *Fusarium*.

KATZNELSON et ses collaborateurs (1964) constatent que certaines Myxobactéries isolées du sol tuent les représentants de trois espèces de Nématodes consommateurs de Bactéries et sécrètent un complexe enzymatique dont une fraction lyse les cadavres de ces Vers. Par contre, *Aphelenchus avenae*, mycotrophe, et une espèce phytophage ne sont pas attaqués.

Mais le cas le plus célèbre et le mieux connu est celui du prédatisme qu'exercent certains Champignons spécialisés vis-à-vis des Amibes et des Nématodes.

Les Champignons prédateurs. — Le prédatisme des Champignons vis-à-vis des Nématodes a été signalé par LOHDE dès 1874 et a fait l'objet de nombreuses études résumées récemment par DUDDINGTON (1962).

1° **Systématique.** — Les Champignons prédateurs sont, pour partie, des Zygomycètes appartenant à un ordre particulier, celui des Zoopagales. Il s'agit en général d'organismes de dimensions réduites attaquant des Protozoaires (par exemple des Amibes), mais quelques espèces plus puissantes capturent des Nématodes ou des Rotifères.

L'autre groupe principal de Champignons prédateurs est constitué par des Moniliales attaquant les Nématodes.

On rencontre enfin quelques formes de position systématique incertaine, rattachées aux Lagénidiales, et des Basidiomycètes (*Nematoctonus*) reconnaissables aux boucles de leur mycélium.

2° **Morphologie.** — Ces Champignons attaquent leurs proies suivant deux modes principaux.

Certains, de petites dimensions, sont des parasites endozoïques dont seules les fructifications émergent du cadavre de leur hôte. Les conidies qu'ils produisent ainsi sont adhésives, se fixent sur leur proie et la contaminent en émettant une hyphe infectante. C'est le cas des *Cochlonema* chez les Zoopagales et de diverses Moniliales (*Harposporium*, *Acrostalagmus*, *Verticillium*). D'autres sont ingérées par l'animal et germent dans son œsophage.

Les autres espèces, plus vigoureuses, forment un mycélium bien développé portant ou non des pièges différenciés. Chez certaines Zoopagales, n'importe quelle région du mycélium peut sécréter un mucilage adhésif lorsqu'une proie entre en contact avec elle. Plus souvent, existent des organes de capture très variables suivant les espèces (fig. 178) (boutons ou rameaux adhésifs, réseaux plans ou tridimensionnels, anneaux).

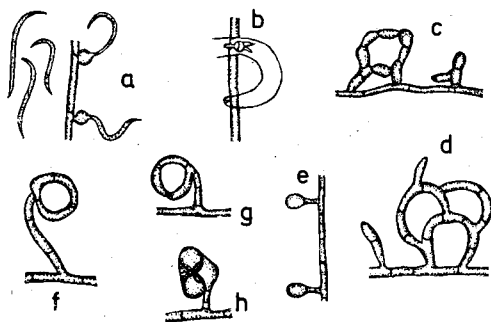


FIG. 178. — Morphologie des Champignons prédateurs. a, conidies adhésives ; b, hyphe adhésive ayant capturé un Nématode ; c, rameaux adhésifs ; d, réseau adhésif ; e, boutons adhésifs ; f, anneau simple ; g, anneau constricteur ouvert ; h, le même fermé (a d'après DRECHSLER ; b à h d'après COOKE et GODFREY).

Le type le plus remarquable est celui des anneaux constricteurs (fig. 179) dont les trois articles deviennent très rapidement turgescents dès que leur face concave est heurtée par un objet, par exemple un Nématode ou même un micro-instrument (COMANDON et DE FONBRUNE). L'animal est ainsi immédiatement ceinturé et essaie, avec toutes ses forces, de se dégager. C'est une lutte passionnante à suivre et au cours de laquelle il arrive que l'anneau se détache du mycélium ; le Nématode s'enfuit alors, toujours enserré. Mais quoi qu'il advienne, il est condamné à mourir et son succès temporaire n'aboutit qu'à disséminer le Champignon. De l'anneau diffusent, semble-t-il, des toxines qui le tuent avant même que l'infection intervienne.

3° **Mode de vie.** — Il semble que les formes endozoïques soient des parasites obligatoires dont les conidies ne germent pas en culture pure, tandis que les espèces produisant des pièges sont aisément cultivables sans leurs proies et paraissent même les négliger lorsqu'elles disposent d'un milieu assez riche. Mais dans ce cas, elles ne forment plus d'organes de capture et l'on a pu démontrer que les Nématodes excrétaient un complexe de protéines dont une fraction, la *némine*, induit la formation des pièges (PRAMER, 1964).

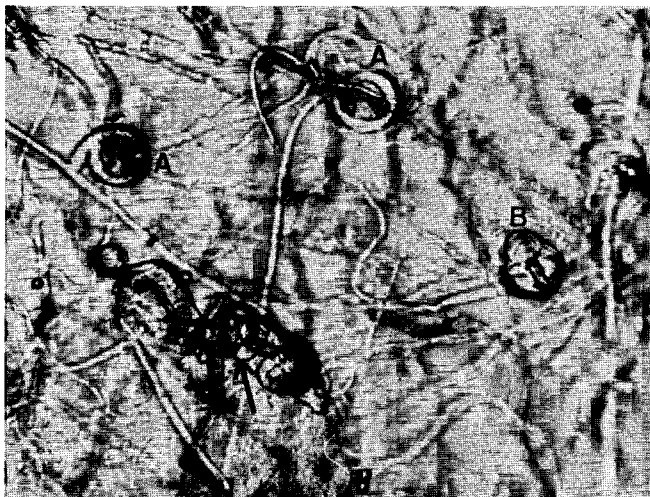


FIG. 179. — *Dactylella* sp. : la flèche indique une boucle-piège qui a capturé un Nématode dont le corps apparaît étranglé à ce niveau. En A, deux pièges en attente ; en B, un piège turgescent s'est refermé (photo F. MANGENOT).

Suivant une règle très générale, les parasites « obligatoires », endozoïques, n'attaquent que certains genres ou même certaines espèces animales et la spécificité des Zoopagales parasites des Amibes est très étroite. Au contraire, les parasites facultatifs ne semblent pas avoir de préférence nette et le choix de leurs proies n'est limité que par des questions de taille ou de composition chimique cuticulaire de l'animal.

4° **Ecologie.** — On est encore mal renseigné sur le nombre et la répartition des Champignons prédateurs dans le sol car les premières méthodes quantitatives sont de mise au point récente (EREN et PRAMER, 1965).

Cependant, DUDDINGTON (1963) pense qu'ils sont « parmi les habitants du sol les plus communs et les plus largement distribués ». On les rencontre en grand nombre dans les sols cultivés, mais surtout dans les matières organiques en décomposition où leurs proies abondent (fumiers et composts, litières forestières, bois pourrissant sur le sol, Mousses) ; cependant ils sont rares dans les tourbes et paraissent absents des sols minéraux. Un apport de fumier ou d'engrais vert détermine une augmentation du nombre des Nématodes et des prédateurs.

On serait donc tenté de croire, *a priori*, à l'existence d'une chaîne trophique : matière organique-Nématodes-prédateurs ; mais il ne faut peut-être pas adopter ce point de vue de façon trop rigide (PRAMER, 1964). En effet, il est possible de provoquer une nette prolifération des prédateurs en ajoutant au sol du saccharose qui n'a guère d'action sur le nombre des Nématodes, alors qu'un taux élevé de matière organique

détermine parfois l'augmentation du nombre des Nématodes et la diminution de l'activité prédatrice. Des apports plus massifs de sucre ou de débris végétaux agissent différemment : ils stimulent les Nématodes et défavorisent les Champignons prédateurs.

L'humidité leur est généralement favorable et il y a même des prédateurs aquatiques mais, dans leur majorité, ils sont exclusivement terrestres et s'accommodent des valeurs moyennes (50 % c.r.).

On est mal renseigné sur leur comportement dans la rhizosphère bien qu'il y ait là un problème d'un très grand intérêt : il est probable que des actions électives se manifestent car la survie d'*Arthrobotrys oligospora* est plus favorisée au voisinage des racines de Soja que dans le sol témoin et surtout dans la rhizosphère du Blé.

Dans le sol, les Champignons prédateurs sont soumis, très probablement, aux phénomènes habituels de compétition et de mycostase (MANKAU, 1962 ; MEKHTIEVA, 1967), mais ils pourraient y répondre de façon variable suivant les groupes. Les espèces produisant des pièges en réseau ont une croissance rapide, prolifèrent les premières après les apports de matières organiques et sont de bons compétiteurs, capables de survivre dans le sol en l'absence de leurs proies. Tous les autres Deutéromycètes exigeraient pour se maintenir la présence d'un hôte où se développer à l'abri des phénomènes de compétition (COOKE, 1964).

La solution de tous ces problèmes, la réponse à tant de questions permettraient peut-être la mise au point progressive de méthodes de lutte biologique efficaces contre les Nématodes phytophages. Or on peut légitimement espérer qu'elles seraient plus élégantes, plus économiques et moins dangereuses que les traitements chimiques.

Malheureusement, les essais tentés en ce domaine ne sont guère encourageants jusqu'ici. L'inoculation du sol à l'aide de cultures pures se heurte au phénomène habituel de mycostase auquel certaines espèces sont très sensibles. Sinon il arrive fréquemment qu'elles ne forment pas de pièges ou qu'elles soient lysées. Les chances d'acclimation immédiate sont donc faibles, et, dans l'ensemble, les prédateurs apparaissent comme de mauvais compétiteurs saprophytiques. Ceci est sans doute en relation avec le fait que leur physiologie est assez banale : ils réclament quelques vitamines, comme beaucoup d'autres Champignons et, par ailleurs, se contentent de sucres et d'azote aminé ou ammoniacal ; ils n'utilisent ni les glucides complexes, ni l' N-NO_3 .

Si l'on tente de favoriser leur établissement dans le sol en fournissant à celui-ci des matières organiques, les résultats ne sont pas très supérieurs ; le dosage des apports intervient et surtout l'état de décomposition de ceux-ci. L'activité prédatrice n'est favorisée que dans la mesure où les substances labiles ne sont pas épuisées ; mais ces dernières favorisent aussi les phénomènes de compétition qui tendent à l'emporter en sol riche.

L'institution de méthodes de lutte biologique exige donc que soit mieux connue l'écologie de chaque espèce de façon à savoir quelles sont les plus spécialisées et comment elles se comportent (COOKE, 1968).

B. — LA MÉSOFAUNE

On réunit sous ce nom un ensemble d'animaux dont les dimensions sont comprises entre quelques centaines de microns et environ 1 cm. C'est un groupe hétérogène pour le systématicien et même pour l'écologiste et cependant la taille médiocre de ses représentants leur fait jouer des rôles semblables, jusqu'à un certain point, dans la formation des sols.

Les principaux représentants de la mésofaune sont les Acariens, les Collemboles et les Enchytraeides, bien que ces derniers fassent en quelque sorte transition avec les Vers de terre.

a) **Nutrition.** — Les *Acariens* sont de petits Arachnides très divers dans leur régime alimentaire.

Certains sont des *prédateurs* (Nématodes, Enchytraeides, Collemboles, larves de Diptères).

De nombreuses espèces se nourrissent, comme les Nématodes, de mucilages bactériens, de Levures, de spores fongiques, ou bien sucent les hyphes des Champignons filamenteux. Ainsi les *Acaridés* au corps mou et blanchâtre vivent en général dans les matières organiques en putréfaction, c'est-à-dire dans des conditions semi-anaérobies.

Par contre, les *Oribates*, au tégument fortement chitineux et qui constituent, à eux seuls, 50 à 85 % du total des Acariens dans le sol, sont capables de déchiqueter en menus fragments soit les débris des végétaux supérieurs (litières, bois morts, pollen), soit des Cryptogames (Algues, Champignons, Lichens).

Les *Collemboles* sont de petits Insectes aptérygotes pourvus généralement d'un appareil saltatoire plus ou moins développé. Leur régime alimentaire est, encore une fois, très varié, tantôt étroitement spécifique, tantôt éclectique. On peut reconnaître, en ne considérant que les formes du sol, deux catégories de Collemboles (ZACHARIAE, 1963) :

— des espèces superficielles, assez grandes et mobiles, réparties de la couche F des litières jusque sur les plantes vivantes et dont la nourriture est diverse : Bactéries, hyphes des Moisissures, Algues, carpophores des Champignons supérieurs, bois pourrissants, Lichens, litières. Leur action est donc comparable à celle des *Oribates*, tout en étant plus intense ;

— des espèces profondes, plus petites, habitant les différentes couches des litières jusqu'aux horizons humifères des sols ; incapables de fragmenter les débris végétaux, elles se nourrissent d'excréments d'autres Arthropodes ou de Vers.

Les *Enchytréides* sont de petits Annélides oligochètes se nourrissant de débris végétaux, de cadavres animaux qu'ils ramollissent, puis ingèrent et fragmentent en

fines particules. En même temps, lorsqu'ils vivent dans le sol, ils avalent des quantités appréciables de silice et assurent, comme les Vers de terre, mais moins activement, un mélange intime des débris organiques aux fractions minérales.

Quelles que soient les substances ingérées, les aliments de la mésofaune semblent bien être — du moins dans la plupart des cas — les Champignons et les Bactéries présents dans les matières organiques en décomposition. Le Collemboule *Dicyrtoma fusca* peut ingérer rapidement de grandes quantités de papier, déjà colonisé par la microflore, et le transformer en pelotes blanches où les fibres sont parfaitement reconnaissables. Les Acariens, même s'ils attaquent les litières, ne peuvent digérer ni les tissus cutinisés, ni les hémicelluloses, ni la lignine. Il est possible d'élever certains Enchytréides en leur donnant pour seule nourriture des cultures de Colibacille.

Enfin les déjections de la mésofaune, bien que très variables d'aspect et caractéristiques de chaque groupe, sont généralement riches en débris mycéliens, en fragments de périthèces et en spores fongiques apparemment intactes ou, au contraire, très altérées. Parfois ce sont des pelotes de conidies lâchement agglomérées, plus souvent n'apparaissent que des débris d'hyphes ou de spores fuligineuses éparses dans une masse semi-fluide ou densément agglutinées en une balle cohérente. Des déjections de ce dernier type peuvent s'accumuler en si grande quantité qu'elles participent à la formation de certains moder, ou plus généralement des humus coprogènes.

b) Interactions avec la microflore. — Nous venons de voir que cette dernière était probablement l'aliment essentiel de la mésofaune. On peut donc supposer que celle-ci joue un rôle régulateur. Selon NOSEK et AMBROZ (1964), les Collemboules détruisent les mycéliums des Champignons, mais en même temps véhiculent leurs spores qui traversent sans dommage le tube digestif de l'animal. Celui-ci serait donc capable de les ensemençer et d'agir ainsi sur l'équilibre Bactéries/Champignons dans des sens divers suivant les caractères du sol. Cependant, selon FARAHAT (1966), certaines espèces se nourrissent essentiellement de spores.

Certains auteurs pensent même (GHILAROV, 1963) que les Oribates et les Collemboules sont, dans une large mesure, associés à des Champignons dont nous ne connaissons pas assez l'identité mais dont ils se nourrissent et qu'ils ensemençent, réalisant ainsi une sorte de symbiose.

D'autre part, la mésofaune assure la fragmentation de la matière organique et l'humidifie au cours du transit digestif.

Enfin elle la débarrasse des colonies vieillissantes appartenant aux premiers stades sériels qui l'avaient envahie. Les excréments apparaissent comme un milieu neuf où voisinent des particules peu altérées, mais divisées et donc moins résistantes, des déchets et des sucs digestifs. Ils réalisent un équilibre biochimique nouveau et se trouvent disponibles pour des stades sériels ultérieurs, peut-être même déjà ensemençés. L'animal modifie morphologiquement la matière organique et la rénove, en quelque sorte, préparant ainsi la place à de nouveaux stades humificateurs et minéralisateurs.

C. — LES VERS DE TERRE

Ce sont des Annélides oligochètes, généralement beaucoup plus grands que les Enchytréides et appartenant en majorité à la famille des Lumbricidés. Leur rôle dans la pédogenèse est d'une très grande importance, mais nous n'avons pas à en traiter ici.

a) **Nutrition.** — Certains petits Lumbricidés semblent vivre aux dépens des racines mortes ou peut-être vivantes ; d'autres attaquent les feuilles pourrissant sur le sol.

Parmi les grandes formes, il en est qui ingèrent chaque jour plusieurs fois leur poids de sol et semblent se nourrir des micro-organismes qu'il contient (GÉRARD, 1963). Mais la plupart d'entre elles consomment les fumiers ou les litières plus ou moins décomposées, celles des plantes à mull de préférence à celles des Conifères ou des espèces riches en tannin.

L'animal entraîne et, parfois, accumule dans ses galeries les feuilles mortes qui se trouvent ainsi placées dans des conditions d'humidité et de température plus constantes, favorisant leur décomposition par les micro-organismes. On sait en effet déjà que toute litière enfouie se décompose plus rapidement que si elle était demeurée superficielle. Les Vers de terre exercent ainsi une première action en quelque sorte mécanique.

Plus ou moins vite, ils ingèrent ces matières organiques plus ou moins altérées en même temps qu'une grande quantité de terre qui, tel un abrasif, leur permet de les réduire à l'état de fines particules. Cet état de division accroît dans une large mesure la surface des débris végétaux et les rend donc plus sensibles aux actions enzymatiques des sucs digestifs et de la microflore. Il y a là une deuxième action à la fois mécanique et chimique extrêmement importante.

Cependant les aliments traversent assez rapidement l'intestin de l'animal et de ce fait ne peuvent subir qu'une dégradation partielle : leur structure microscopique demeure reconnaissable et les déjections des Vers de terre sont encore riches en cellulose et même en chitine, bien que celle-ci soit plus attaquée (PARLE, 1963). En conséquence les actions chimiques du Lombric lui-même apparaissent beaucoup moins importantes que les effets secondaires dus à la microflore qui peuple l'intestin et les rejets des Vers de terre. Mais ces déjections sont enrichies d'une part en matière végétale finement divisée et donc plus labile, d'autre part en substances azotées sécrétées par l'animal (muco-protéines produites par des glandes épidermiques, urée, acide urique, etc.) et enfin en CaCO_3 , élaboré par des glandes spéciales, et qui contribue à maintenir le pH à une valeur favorable. De plus leur stabilité structurale, leur capacité de rétention sont plus élevées que celles du sol et les rejets des Vers apparaissent comme un milieu neuf, enrichi en azote, mais aussi en P et K échangeables et donc particulièrement favorable aux activités microbiennes ou du moins à un certain type d'activité.

b) **Influence sur la microflore.** — Le tractus digestif des Lumbricidés n'héberge pas de microflore symbiotique : la dégradation des aliments et, en particulier, de la cellulose et de la chitine, est due aux activités enzymatiques du suc digestif ou des micro-organismes que l'animal ingère avec sa nourriture et qui prolifèrent au cours du transit. En effet, dans ce milieu particulier qu'est le contenu intestinal du Ver, certains groupes de micro-organismes se trouvent avantagés et la population des rejets est bien différente de celle du sol avoisinant.

La plupart des analyses montrent un accroissement, parfois très important (plus de 10 fois), du nombre des Bactéries et des Actinomycètes tandis que les Algues, les Levures, les Champignons filamenteux sont en partie détruits.

Mais tous les groupes bactériens ne sont pas influencés de la même manière : les *Azotobacter* sont réduits numériquement alors que la nitrification est exaltée, ce qui correspond à l'enrichissement du milieu en N. La cellulolyse bactérienne est accrue fortement alors que la cellulolyse fongique est entravée ; quant aux Bacilles sporulés (*Bacillus cereus* et var. *mycoïdes*), tantôt ils se multiplient jusqu'à atteindre 35 fois leur nombre dans le sol, tantôt ils régressent. Ce n'est d'ailleurs pas là la seule contradiction que l'on puisse enregistrer car, pour certains auteurs, la microflore des rejets n'est pas plus nombreuse que celle du sol et souvent même elle est réduite.

C'est que les conditions expérimentales ou l'identité et le mode de vie des différentes espèces doivent être pris en considération. Si, par exemple, le sol est enrichi artificiellement en aliments facilement utilisables (glucose, litière d'Aulne, etc.) la stimulation de la microflore peut se produire avant le transit digestif et les déjections paraissent moins riches que le sol.

De plus, deviennent dominants les éléments de la microflore adaptés aux aliments que consomme l'animal. Ainsi *Lumbricus rubellus* se nourrit, en surface du sol, de débris relativement frais et, dans son intestin, prolifèrent les Bactéries fluorescentes correspondant aux premiers stades de décomposition des litières ; *Octolasion lacteum* préfère des aliments assez altérés et héberge en grand nombre des Bacilles sporulés et des Actinomycètes caractéristiques d'une transformation plus avancée des matières organiques. Mais sur certains sols son mode de vie est analogue à celui de *L. rubellus* et sa microflore intestinale présente les mêmes caractéristiques que chez ce dernier.

De même, la mobilisation de l'N est plus ou moins intense suivant les espèces et leur mode de nutrition.

Enfin les conditions climatiques et la saison ont aussi une influence certaine : dans la taïga l'effet stimulant des Vers de terre sur la microflore est moins marqué que dans la zone des forêts mixtes ; leurs rejets contiennent moins de Bactéries utilisant l'N minéral, moins de Bacilles sporulés, plus d'Actinomycètes.

En été, *L. rubellus*, privé de débris frais, exerce une action analogue à celle d'*O. lacteum* (KOZLOVSKAJA et ZHDANNIKOVA, 1961).

Plus tard, dans les rejets anciens, les spores des Champignons germent, le nombre des Levures augmente tandis que celui des Bactéries et Actinomycètes ne varie plus guère (PARLE, 1963) et l'activité respiratoire totale diminue peu à peu, probablement à la suite de phénomènes d'antagonisme.

Mais les indications précédentes ne doivent pas être généralisées abusivement : l'influence des Lombrics sur la microflore aussi bien de leur tube digestif que de leurs rejets varie suivant les caractères du sol et du climat et suivant la nature de leurs aliments. Il arrive ainsi que les Champignons cellulolytiques soient dominants au cours du transit digestif et n'aient plus qu'un rôle secondaire dans les excréments (KOZLOVSKAJA ET ZAGURAL'SKAJA, 1966).

EN RÉSUMÉ, les Lumbricides, mais surtout leurs grandes formes, stimulent fortement l'activité biologique, surtout celle des Bactéries, en divisant la matière organique, en la mêlant intimement au sol, en améliorant le C/N du milieu et son pH par la sécrétion de calcite, peut-être enfin en sécrétant des vitamines du groupe du Bios. Réciproquement, la microflore apporterait à son hôte un complément d'enzymes et de facteurs de croissance.

De plus, les spores de certains Champignons peuvent traverser leur tube digestif sans perdre leur vitalité et tout laisse à penser que les Lombrics exercent une influence importante sur la dissémination des Champignons dans les sols.

En leur présence, humification et minéralisation sont accélérées, ce qui conduit à la formation du mull. Mais cet effet persiste même si, après quelques semaines, l'animal est éliminé du milieu. C'est donc que l'action favorable des Lombrics ne s'exerce pas seulement de façon directe, mais aussi par l'intermédiaire de la microflore.

D. — LES TERMITES

Ce sont des Insectes isoptères vivant, à de rares exceptions près, dans les régions tropicales et subtropicales où ils remplissent un double rôle d'une grande importance : ils participent très activement à la fragmentation et même à la décomposition des matières organiques (bois, litières, pailles, etc.), et nous verrons que certaines espèces possèdent des aptitudes minéralisatrices tout à fait exceptionnelles. D'autre part, ils assurent des remaniements plus ou moins profonds du sol. Les *Macrotermes* pourraient ainsi apporter en surface plus d'une tonne par ha et par an de terre fine qu'ils vont chercher jusqu'à 3 ou 4 m de profondeur. Leur action pourrait ainsi aboutir à reconstituer un sol neuf au-dessus des cuirasses ferrallitiques.

a) **Nutrition.** — Du point de vue de leur nutrition on peut distinguer quatre catégories de Termites :

— les Termites des *bois secs* qui creusent leurs galeries dans les bois durs et n'ont aucune relation avec le sol. Leur rôle paraît se ramener à la fragmentation de la

matière ligneuse et à la digestion partielle de ses fractions glucidiques. Ceci est d'ailleurs important si l'on songe que l'humification des bois compacts est beaucoup plus lente et difficile que celle d'un produit divisé ;

— les Termites des *bois humides* demeurent aussi dans les matériaux ligneux mais sont en relation avec le sol. Ils vivent dans les souches, racines, rameaux enfouis. Leur rôle est analogue à celui des Termites du premier groupe, mais ils semblent préférer des matériels déjà attaqués par les micro-organismes ;

— les Termites *champignonnistes* récoltent en les déchiquetant des fragments de bois sain ou altéré, des chaumes, des écorces, des excréments d'Herbivores, et les entreposent dans leurs nids ; puis lorsque ces matériels sont modifiés et brunis, ils en font des boulettes semi-fluides qu'ils entassent en sortes de meules. Ces dernières sont envahies par divers Champignons, des *Xylaria* mais surtout des Agaricales spécifiques, absolument inféodées aux Termites, les *Termitomyces*. L'animal réprime probablement l'Ascomycète qui malgré sa vitesse de croissance supérieure n'apparaît pas tant que la colonie est active, alors qu'il prolifère intensément quand elle entre en dégénérescence, et dans les nids vides. Mais en fait ce ne sont pas les Champignons qui sont consommés ; c'est la meule qui constitue le principal, si ce n'est le seul aliment de ces Termites ;

— les autres Termites se nourrissent de débris variés : litières, rameaux ou troncs en forêts, chaumes et pailles dans les savanes et les cultures. Certains sont qualifiés d'*humivores* parce qu'ils semblent consommer la matière organique des horizons supérieurs du sol. En tout cas leurs nids ont une teneur en C organique inférieure à celle du sol originel.

Les Termites *humivores* sont incontestablement les premiers responsables de la disparition rapide de la matière végétale tombée au sol dans les forêts équatoriales. Dans la cuvette centrale congolaise (MALDAGUE, 1964) leur biomasse peut atteindre 100 kg/ha et cette population consomme au moins 600 à 700 g/m²/an de débris végétaux. Si l'on tient compte en outre de la matière organique immobilisée dans leurs nids, on arrive à quelque 10 t de substances transformées annuellement.

Leur tube digestif renferme une flore bactérienne, sans Flagellés, mais susceptible de dégrader la cellulose, et l'on peut considérer qu'une partie importante de la microflore saprophyte vit en une sorte de symbiose avec les Termites et travaille principalement dans l'intestin de l'Insecte.

b) Interactions avec la microflore. — Nous venons de voir que les modes de vie des Termites étaient divers ; aussi, tout naturellement, leurs relations avec les micro-organismes sont-elles aussi très variées. Nous rencontrerons même des cas d'association extrêmement étroite entre l'animal et une microflore hautement spécialisée, ce qui conduit à des phénomènes d'adaptation tout à fait remarquables.

Les aliments carbonés des Termites paraissent être essentiellement la cellulose et les hémicelluloses, bien qu'ils puissent aussi utiliser l'amidon. La digestion des poly-

osides pariétaux est rendue possible grâce à des micro-organismes associés, vivant dans le tube digestif de l'Insecte.

Quant à l'N nécessaire à leurs synthèses, ils se le procurent de différentes manières suivant les groupes.

— Les Termites xylophages des bois secs (Calotermitidés, Termopsidés, Rhinotermitidés) hébergent dans une dilatation de leur intestin postérieur des Bactéries et des Flagellés spéciaux qui dégradent la cellulose et les hémicelluloses en fournissant à leur hôte des aliments glucidiques assimilables.

Ces micro-organismes associés sont extrêmement nombreux et l'on a estimé le poids des seuls Flagellés à $1/3$ à $1/6$ de celui de l'animal. Ils pourraient donc être pour celui-ci une source importante de protéines. Ceci expliquerait comment les Termites de ce groupe sont capables de dégrader et d'utiliser le matériau ligneux de façon beaucoup plus efficace que tous les autres Insectes. Certains *Calotermes* détruisent en 150 jours 95 % de la cellulose et 60-70 % des hémicelluloses, et des chiffres plus élevés ont même été cités (SEIFERT, 1966).

— Les Termites xylophages des bois humides (Termitidés) hébergent surtout ou exclusivement des Bactéries que l'on a comparées à celles de la panse des Ruminants, mais sur le rôle exact desquelles on est mal renseigné.

Les Termites de ce groupe sont attirés vers des matériels déjà attaqués par certains Champignons, et le degré d'altération du bois influe sur la valeur nutritive de celui-ci et sur le choix des animaux. On sait que les Champignons de pourriture des bois accumulent, grâce à des mécanismes que nous connaissons mal, des quantités appréciables d'N qui seraient disponibles pour l'Insecte.

D'autre part, les extraits aqueux de bois de Pin envahi par *Lenzites trabea* exercent, même après forte dilution, un net effet attractif sur de nombreuses espèces de Termites. Certains composés phénoliques libérés par les pourritures blanches (vanilline, acide vanillique) en font autant et, encore une fois, à très faible dose ; mais il faut se garder de conclure, pour le moment, car bien d'autres substances sont aussi efficaces. De plus, certains Champignons des pourritures blanches ont une action toxique sur les Termites, alors que les agents des pourritures brunes sont plus ou moins favorables (BECKER, 1966).

— On a cru longtemps que les Termites champignonnistes se nourrissaient des Champignons des meules. Mais les observations de GRASSÉ et NOIROT (1958) montrent plutôt que les *Termitomyces* préparent les débris végétaux en les rendant plus digestibles ; ceci n'empêche pas qu'ils puissent être aussi consommés en partie par les Insectes qui y trouveraient des substances azotées et des sources de vitamines.

La surface des meules est constamment régénérée par des apports de matière organique que l'animal entasse et que le Champignon colonise lorsqu'elle est brunie. Les composés pectiques sont détruits mais non cutine et subérine, tandis que se développe une véritable pourriture blanche (cf. p. 140) qui démasque la cellulose. Ce sont les régions anciennes de la meule, délignifiées et décolorées, que les Termites consomment et qui leur fournissent à la fois glucides et protéines des mycéliums âgés. Mais, ici

encore, la dégradation de la cellulose est assurée ou au moins complétée dans l'intestin postérieur de l'animal par une riche flore bactérienne associée.

Ainsi, grâce aux micro-organismes avec lesquels ils vivent en association, les Termites assurent, plus que les autres représentants de la faune du sol, une dégradation profonde de la matière organique qui est pour une plus ou moins grande part minéralisée. Leur action peut même se traduire par une diminution du taux de carbone du sol, diminution dont les conséquences seraient graves dans les régions arides où la végétation est réduite et les Termites nombreux.

A côté de ces associations, que l'on qualifierait volontiers de synergiques, existent des phénomènes d'antagonisme : toxicité de certains Champignons (*Trichoderma*, certains *Aspergillus*), parasitisme d'*Absidia coerulea*, des *Termitaria*, des *Antennopsis*, etc.

c) **Microflore des termitières.** — Les Termites souterrains construisent leurs nids dans les horizons superficiels des sols sans y provoquer de modifications chimiques très importantes. Les grandes termitières épigées ont une tout autre signification et portent une végétation très particulière. Elles sont édifiées à partir d'éléments d'origine profonde que les ouvriers vont chercher et que, dans certains cas, ils ingèrent ; aussi leurs parois ont-elles une composition bien différente de celle du sol voisin.

Elles sont formées d'argiles associées à des quantités plus ou moins importantes de sables fins, relativement pauvres en C organique, à C/N bas, de pH presque neutre et leur fertilité est élevée.

Nous connaissons mal la microflore qui les peuple ; cependant MEIKLEJOHN (1965) a étudié celle des nids de *Macrotermes* en la comparant à celle du sol superficiel voisin. Dans les nids, les cellulolytiques sont plus nombreux ainsi que les *Pseudomonas* dénitrifiants, ce qui témoigne, d'après cet auteur, d'un accroissement de l'activité biologique globale. L'ammonification est cependant peu modifiée alors que les nitrificateurs sont plus abondants et les fixateurs libres, réduits ou inchangés.

E. — AUTRES INSECTES

Les Termites ne sont pas les seuls animaux capables de provoquer de profondes altérations des matières organiques. Dans les sols des régions tempérées, les larves de certains Diptères (Bibionides, Tipulides) et Coléoptères (Cétonides, Scarabéides) sont capables d'ingérer, à certaines saisons, de grandes quantités de litière.

Souvent leurs pelotes fécales s'accumulent dans le sol et forment un humus coprogène entrant, notamment, dans la composition du moder. Mais ces déjections sont souvent constituées de débris profondément altérés et l'on sait que l'intestin de certaines espèces abrite une flore associée de Flagellés et de Bactéries cellulolytiques. Il est

également possible que le transit digestif, très lent, permette aux cellulolytiques ingérés avec les aliments de travailler dans l'intestin de l'animal.

D'autres Insectes creusent leurs galeries dans les bois morts et les transforment en sciure : les larves de certains Coléoptères, les Fourmis pourraient ainsi réduire 50 à 60 % des bois en les amenant à l'état de pelotes fécales (GHILAROV et coll.). Mais l'action de ces animaux (*Hyloterpes* ou *Anobium*) est très différente de celle des Termites : ces derniers ingéreraient des quantités modérées de substance ligneuse et les dégraderaient profondément ; les autres Insectes xylophages, attaquant des bois intacts, y trouvent de très faibles quantités d'N et doivent donc avaler des masses importantes de substance ligneuse, le 1/3 ou le 1/4 de leur poids chaque jour. En contrepartie, leurs déjections contiennent des débris peu transformés où subsistent les 2/3 de la cellulose et plus encore d'hémicellulose, mais dont la teneur en N atteint 0,1 %.

F. — CONCLUSION

NIELSEN (1962) constate que les sucs digestifs de la plupart des espèces étudiées par lui sont dépourvus des enzymes nécessaires à la dégradation des membranes cellulaires végétales. Aussi peut-on admettre que, de façon très générale, les *décomposeurs primaires* sont les micro-organismes et, mais pour une plus faible part, les Termites, les Gastéropodes, certaines Larves (Tipulides), peut-être aussi des Protozoaires. La faune comprendrait au contraire surtout des *consommateurs primaires* attaquant les débris végétaux pour utiliser les micro-organismes qui les décomposent.

Il est difficile d'évaluer la biomasse de la faune du sol car sa répartition n'est uniforme ni dans l'espace, ni dans le temps ; mais la plupart des auteurs pensent qu'elle ne dépasse pas le 1/4 de celle de la microflore. Si l'on admet, en première approximation, que les activités respiratoires de l'une et de l'autre sont du même ordre d'intensité, la faune ne minéraliserait que 10 à 20 % du carbone organique, la microflore 80 à 90 %. Dans les sols hydromorphes, où la faune est très réduite, le rôle de celle-ci devient négligeable.

Quant à sa participation à la minéralisation de l'N, elle serait aussi dix fois plus réduite que celle des Bactéries (RAW, 1961).

On a essayé de préciser le rôle de la faune et, plus spécialement, de la mésofaune en comparant entre elles les vitesses de disparition d'une même litière de Chêne placée sur ou dans un sol normal ou, au contraire, subissant des traitements insecticides.

L'application de naphthalène, même à des doses massives (100 g/m²) ne semble pas réduire les activités microbiennes dans le sol (bactériennes et fongiques). Cependant les pertes de poids sont sensiblement moins élevées dans les sols traités où le lessivage des bases est également quelque peu ralenti. Par contre, le dégagement de CO₂ par le sol n'est pas modifié et WITKAMP et CROSSLEY (1966) en concluent que la mésofaune

en fragmentant la litière accélère son entraînement dans les horizons inférieurs, favorise son lessivage, mais ne modifie pas sensiblement sa vitesse de minéralisation. De même un traitement à l'aldrine retarde la disparition de la litière, alors que l'application de DDT, qui favorise les Collemboles, l'accélère.

Ainsi le rôle écologique de la faune est surtout indirect. Son intervention dans la pédogenèse est parfois spectaculaire au point que l'on parle de sols fauniques ; mais il s'agit alors de grandes formes (Vers de terre, Termites) dont l'action est pour une plus ou moins large part mécanique.

L'importance de la faune réside plutôt dans l'effet stimulant qu'elle exerce sur la microflore :

— elle fragmente la matière organique, la rendant ainsi plus accessible, plus facilement pénétrable par les micro-organismes et plus sensible aux actions enzymatiques.

Elle l'humecte au cours du transit digestif et parfois l'incorpore au sol, où elle est placée dans des conditions de microclimat plus favorable.

Enfin, très souvent, le rapport C/N des déjections est abaissé par rapport à celui du matériel originel.

— les animaux exercent un rôle régulateur sur la microflore et contribuent à déterminer l'équilibre Bactéries/Champignons, leur action étant généralement favorable aux premières.

Ils éliminent les vieilles colonies, dont l'activité est ralentie, et permettent ainsi l'établissement des stades sériels successifs.

— la faune joue un rôle important dans la dissémination des micro-organismes : l'animal transporte à sa surface ou dans son tube digestif leurs organes de propagation, les ensemece sur des matières organiques favorables et renouvelées, où elles sont à l'abri de la fongistase et de la bactériostase.

Enfin les excréments des Invertébrés apparaissent comme des foyers à partir desquels les différents groupes de Bactéries peuvent s'étendre dans le sol voisin.

Aussi a-t-on pu dire de la faune du sol qu'elle était le catalyseur du métabolisme microbien. « Son importance réside moins dans les altérations chimiques qu'elle provoque que dans le fait qu'elle oriente et régularise un flux énergétique plusieurs fois supérieur à celui qui la traverse. » (MACFADYEN.)

CHAPITRE IV

SUCCESSIONS, CHAÎNES ET GROUPES MICROFLORISTIQUES

A. — NOTION DE SUCCESSION

Sur un substrat caractérisant un microhabitat donné, les micro-organismes telluriques se développent en vagues successives qu'il est facile de mettre en évidence au laboratoire ou d'observer *in situ*.

Un exemple de succession très simple nous est fourni par l'expérience suivante conçue par LEMOIGNE et ses collaborateurs (1951). Ces auteurs, après avoirensemencé avec des grains de terre des plaques de silico-gel imprégné d'un milieu nitraté ou ammoniacal, observent pour de nombreux sols la succession suivante :

— une première pullulation bactérienne composée essentiellement de *Bacillus megaterium* ;

— une deuxième pullulation composée essentiellement de *Pseudomonas*, cette pullulation secondaire étant induite par la libération dans le milieu d'acide β -hydroxybutyrique résultant de l'autolyse du Bacille.

Bien entendu, les successions qui apparaissent *in situ* sont beaucoup plus complexes car elles font intervenir dans chaque vague un nombre plus ou moins grand d'espèces microbiennes et les modifications du substrat induites par ces différentes vagues sont beaucoup plus difficiles à analyser.

Si l'on se place sur le plan de la productivité dans le cadre de l'écosystème constitué par le sol, il est possible de distinguer deux types de vagues microbiennes d'importance d'ailleurs très inégale : 1° les vagues de micro-organismes producteurs, dont le rôle est restreint ; 2° les vagues primaires et secondaires de micro-organismes consommateurs et décomposeurs, dont l'importance est considérable.

Les vagues de micro-organismes producteurs renferment des espèces capables d'effectuer la synthèse de matière organique à l'aide de réactions chimiosynthétiques ou photosynthétiques. Bien souvent ces vagues, qui sont essentiellement constituées par des Algues, colonisent des sols pauvres ou dépourvus de matière organique, tels que des

sols érodés, des cendres volcaniques récentes, et préparent l'installation des végétaux supérieurs.

Lorsque la végétation est installée sur le sol, ce sont les plantes supérieures qui, pour une grande part, jouent le rôle de *producteurs* en cédant l'énergie solaire qu'elles ont captée sous forme de matière organique aux vagues successives de *micro-organismes consommateurs et décomposeurs*, qui constituent la presque totalité de la microflore tellurique. Les premières de ces vagues microbiennes sont les *vagues primaires*⁽¹⁾ qui se développent directement aux dépens de la *matière organique fraîche* (excrétions racinaires, résidus d'origine végétale et accessoirement, cellules des micro-organismes producteurs, produits intermédiaires de dégradation de la matière organique fraîche, produits de synthèse microbienne). Les vagues primaires se succèdent jusqu'à ce que la matière organique fraîche ait disparu pour faire place à la *matière organique humifiée*, dont la dégradation est beaucoup plus lente. C'est cette dernière qui sert de substrat aux *vagues secondaires*.

a) *Vagues microbiennes primaires.* — Elles sont composées essentiellement de Bactéries et Champignons à croissance généralement rapide. Pour mettre en évidence les micro-organismes impliqués, il suffit d'enrichir le sol avec les substances dont on étudie la dégradation et de suivre les modifications apportées à la composition de la microflore tellurique. En utilisant cette méthode très classique l'on a pu démontrer que, parmi les Bactéries, un rôle important était dévolu aux genres *Bacillus* et *Pseudomonas* ainsi qu'à certains autres micro-organismes gram-négatifs. Ainsi, HOLDING (1960) note que le pourcentage des Bactéries gram-négatives passe de 1 % dans un sol non enrichi à 33 % dans un sol enrichi en acide malique et 80 % dans un sol enrichi en acides aminés, après une incubation de deux jours à 18-20 °C.

Les populations fongiques se développent aussi activement sur les résidus végétaux frais.

Quant aux Actinomycètes, leur rôle est parfois effacé en raison de leur inaptitude concurrentielle liée à leur faible taux de croissance. Mais ils peuvent constituer une fraction importante des vagues primaires lorsqu'ils sont bien adaptés à la dégradation des substrats présents, par exemple : matériaux riches en azote ou en chitine (MITCHELL et ALEXANDER, 1962).

Un bel exemple de succession de vagues primaires fongiques nous est donné par KENDRICK et BURGESS (1962). Etudiant la décomposition des aiguilles de *Pinus sylvestris*, ces auteurs ont distingué les phases suivantes :

(1) Cette qualification de primaire et secondaire, qui est adoptée par ALEXANDER (1964), diffère de celle qui est proposée par GARRETT (1963) dans le cas des Champignons. En effet, ce dernier auteur désigne sous le terme de *primaires* les Champignons se développant à partir de sucres ou de composés carbonés moins complexes que la cellulose qui préexistent dans les tissus végétaux avant leur colonisation et leur dégradation par la microflore tellurique. Par Champignons *secondaires*, GARRETT désigne ceux qui, associés aux micro-organismes cellulolytiques, vivent aux dépens des produits de dégradation de la cellulose.

1° quatre mois avant la chute des feuilles, une invasion de celles-ci par des parasites (*Coniosporium*, *Lophodermium*, *Fusicoccum*) et une infection superficielle (*Pullularia pullulans*) ;

2° après la chute des feuilles, une prolifération de *Pullularia pullulans*, qui dégrade pectine et amidon, la disparition du *Coniosporium* et l'extinction progressive des *Lophodermium* et *Fusicoccum* ;

3° une invasion progressive de la nouvelle litière par des Champignons de la litière ancienne (*Helicoma* et *Sympodiella*) et par des colonisateurs internes (*Desmazierella*), suivie de l'ingestion des mycéliums par les Acariens et autres membres de la mésofaune ;

4° l'installation des Basidiomycètes cellulolytiques et ligninolytiques.

L'action de ces vagues microbiennes successives aboutit en 8 à 9 ans à la décomposition totale de la litière de *Pinus sylvestris* (fig. 180).

Des séquences semblables de vagues microbiennes ont également été mises en évidence dans d'autres types de litières, telles que la litière de *Fagus crenata*, dont la décomposition suit la voie de la pourriture blanche et celle de la pourriture brune. La pourriture blanche résulte de l'invasion des résidus végétaux successivement :

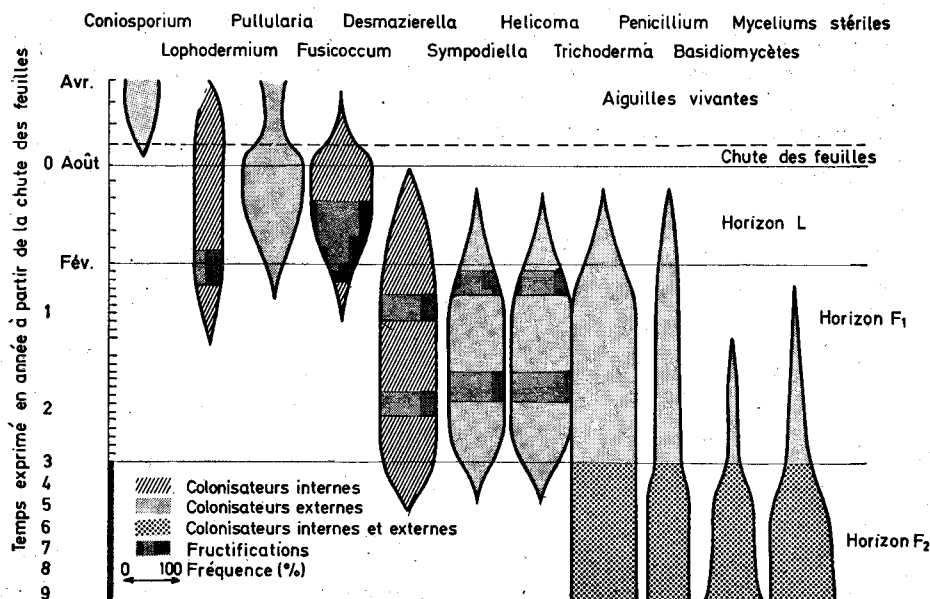


FIG. 180. — Successions fongiques dans une litière de *Pinus sylvestris* sur podzol (KENDRICK et BURGESS, 1962).

1° par des Hyménomycètes appartenant aux genres *Collybia* et *Mycena* ; 2° par des Bactéries tolérant l'acidité (SAITÔ, 1966).

On peut considérer comme faisant également partie des vagues primaires les micro-organismes qui se développent aux dépens des cellules de germes appartenant à des vagues primaires antérieures ; tel est le cas des Actinomycètes qui, capables de métaboliser la chitine, consomment les parois cellulaires des Champignons colonisateurs des résidus végétaux.

La microflore des vagues primaires a été désignée par WINOGRADSKY (1949) sous le terme de *microflore zymogène* ; d'autres auteurs préfèrent l'appeler *allochtone* ou *exogène*. Nous verrons au paragraphe suivant le défaut de cette terminologie.

b) Vagues microbiennes secondaires. — Elles sont composées d'espèces microbiennes se développant aux dépens de la matière organique humifiée. Alors que les processus primaires de dégradation sont caractérisés par leur rapidité, les processus secondaires sont beaucoup plus lents car les substrats humiques sont plus résistants à l'attaque enzymatique et microbienne. Cette résistance varie suivant la fraction humique considérée ; c'est ainsi que la *fraction acide fulvique* serait beaucoup plus labile que la *fraction humique*.

Les micro-organismes responsables de la dégradation des substances humiques appartiennent à des groupes très différents ; ce sont aussi bien des Champignons (*Penicillium* ou *Polystictus*, par exemple) que des Bactéries (*Pseudomonas*, par exemple) ou des Actinomycètes, des Mycobactéries ou des Protozoaires (cf., par exemple, ARISTOVSKAYA, 1963).

Cette microflore a été désignée par WINOGRADSKY sous le terme d'*autochtone*, car il la considérait comme caractéristique d'un sol donné par opposition à la microflore *zymogène* (ou *allochtone*). En fait, cette conception est erronée, microflore *autochtone*. et *zymogène* appartenant toutes les deux au sol. Si, en un point donné, ces deux microflores sont appelées à se succéder dans le temps, elles n'en coexistent pas moins dans un même sol, car leurs substrats respectifs (matière organique fraîche et matière organique humifiée) s'y trouvent, en règle générale, présents l'un et l'autre.

On remarquera enfin qu'une même espèce microbienne peut à la fois se comporter en espèce *zymogène* et *autochtone* ; tel est le cas de *Polystictus* qui se développe aussi bien sur le bois mort que sur des substances humifiées.

Les successions que l'on vient de décrire dans le cas des micro-organismes telluriques ne sont pas sans analogie avec les successions progressives chez les plantes supérieures. Mais, contrairement à ces derniers types de succession, les *successions de micro-organismes non photosynthétiques sur un substrat quelconque aboutissent toujours à la diminution de l'énergie disponible totale ou énergie libre du système* (WILHELM, 1965).

B. — NOTION DE CHAÎNE OU SÉQUENCE ⁽¹⁾

Alors que les successions correspondent à une sériation dans le temps, les chaînes ou séquences correspondent à une sériation dans l'espace. L'intérêt de l'étude des chaînes réside essentiellement dans le fait que « cette sériation dans l'espace reproduit la succession chronologique » (SCHAEFER, 1964b), ce qui facilite considérablement les recherches sur la dynamique microbienne. La notion de chaîne est familière au pédologue et au phytosociologue, qui étudient l'enchaînement des profils et stations en fonction de variations spatiales liées, par exemple, à la topographie ou au microclimat. Elle est partiellement applicable dans le domaine de la biologie des sols où de nombreux travaux ont été consacrés à ce problème. Nous n'en citerons que quelques-uns parmi les plus récents.

a) **Chaînes dunaires.** — En partant de la plage et en se dirigeant vers l'intérieur des terres, il est fréquent d'observer parallèlement à l'installation d'une végétation de plus en plus dense, un accroissement considérable de la teneur du sol en matière organique et souvent une baisse du pH liée à la décarbonatation. Les micro-organismes sont très sensibles à ces modifications successives du milieu. C'est ainsi que l'*Azotobacter*, très fréquent en bordure de mer, peut disparaître lorsqu'on s'éloigne du rivage et que la végétation induit une acidification du sol (DOMMERGUES, 1954 ; SAITÔ, 1955). Mais ce n'est pas toujours le cas : certaines plantes (*Casuarina equisetifolia*, par exemple) n'entraînent aucune acidification marquée et peuvent au contraire favoriser le développement de ce micro-organisme, dont la densité croît alors en allant de la côte vers l'intérieur (MAHEUT et DOMMERGUES, 1959).

b) **Chaînes de sols hydromorphes.** — Le premier exemple est relatif à une chaîne de sol en zone tempérée (Alsace). Cette chaîne présente une hydromorphie de plus en plus discrète, puisqu'elle part d'un *sol humique* à gley sous *Molinietum* saturé en eau pour aboutir à un *sol brun calcaire* à gley profond. Parallèlement à la baisse de l'intensité des processus d'hydromorphie, on observe une diminution du rapport *Clostridium*/*Azotobacter* et un ralentissement de la dénitrification (SCHAEFER, 1962).

Le deuxième exemple porte sur une vallée en zone tropicale. Il s'agit de la vallée de Foullasso (Haute-Volta), où une coupe transversale effectuée depuis le bourrelet de berge jusqu'à la limite externe de la zone alluviale montre une évolution considérable des paysages microbiens au fur et à mesure que l'on s'éloigne de la rivière. A proximité de celle-ci, la densité des *Beijerinckia* est élevée et celle des *Azotobacter* est nulle, la population de micro-organismes nitrificateurs est réduite ; par contre, à la bordure externe de la vallée, les *Azotobacter* ont pris la place des *Beijerinckia* et la nitrification autotrophe est favorisée (DOMMERGUES, résultats non publiés).

(1) On dit aussi *catena*.

C. — NOTION DE GROUPE ÉCOLOGIQUE MICROFLORISTIQUE

L'étude de l'écologie des plantes supérieures a conduit à admettre depuis longtemps le concept de *groupe écologique végétal*. Pour transposer cette notion dans le domaine de la biologie des sols, il est nécessaire de préciser l'échelle à laquelle on se place.

a) *Si l'on adopte l'échelle du groupe écologique végétal*, on peut considérer la microflore comme un élément structural de ce groupe (MEYER, 1963). On a vu en effet qu'il existe des relations très étroites entre les plantes et la microflore, notamment au niveau de la rhizosphère ; ces relations peuvent même aller jusqu'à la symbiose et au parasitisme. On conçoit alors fort bien qu'à un groupe écologique végétal corresponde un groupe écologique microfloristique composé d'espèces présentant des activités bio-chimiques caractéristiques ; une multitude de recherches ont été conduites dans cet esprit. Certaines d'entre elles ont été évoquées à propos de l'étude de l'influence de la végétation sur l'équilibre biologique général du sol. Parmi les travaux les plus récents,

**TABLEAU CI. — ASSOCIATIONS FONGIQUES DANS LES QUATRE MICROHABITATS
CONCENTRIQUES CONSTITUANT LA RHIZOSPHERE DE « PHASEOLUS VULGARIS »
(TAYLOR et PARKINSON, 1965)**

CHAMPIGNONS	SURFACE DE LA RACINE	ZONE CORTICALE	STÈLE EXTERNE	STÈLE INTERNE
<i>Mucor</i> sp.	*	*		
<i>Mortierella vinacea</i>	*	*		
<i>Trichoderma viride</i>	**	*		
<i>Fusarium sambucinum</i>	**	*		
<i>Penicillium</i> spp.	**	**		
<i>Penicillium lilacinum</i>	**	**		
<i>Mortierella</i> spp.	**	**	*	
<i>Gliocladium</i> spp.	****	**	*	*
<i>Fusarium oxysporum</i>	*****	*****	*	*
<i>Cylindrocarpon radicola</i>	***	***	*****	****
Formes stériles noires	*	*	****	*****
<i>Varicosporium elodea</i>		*	**	**
<i>Sphaeropsidales</i> spp.		*	*	
<i>Botrytis cinerea</i>		*	*	
Formes stériles hyalines			*	**

N. B. — La fréquence est proportionnelle au nombre d'astérisques : * faible fréquence ; **** très forte fréquence.

nous citerons, à titre d'exemple, ceux de LAVERGNE (1957), MEYER (1963), MISHUSTIN (1964).

En fait, on est amené à constater que, bien souvent, la microflore est constituée par un fonds commun d'espèces ubiquistes, dont la densité est assez élevée, sur lequel ne ressort qu'un assez petit nombre d'espèces à distribution réduite (MEYER, 1963). La notion de groupe écologique, au sens où l'entendent ces botanistes, n'est plus applicable dans ces conditions. Elle ne réapparaît que lorsque l'on se place à l'échelle du microhabitat.

b) Si l'on adopte l'échelle du microhabitat, il est possible de mettre en évidence des groupes microfloristiques caractéristiques. Ainsi, TAYLOR et PARKINSON (1965) ont pu distinguer autour de l'axe de la racine de *Phaseolus vulgaris* quatre zones concentriques (surface de la racine, zone corticale, partie externe de la stèle, partie interne de la stèle), constituant quatre microhabitats auxquels correspondent quatre associations fongiques bien différenciées (tableau CI).

BIBLIOGRAPHIE

Le présent ouvrage est fondé sur le dépouillement d'une dizaine de milliers de fiches parmi lesquelles nous avons dû faire un choix très sévère. Celui-ci a consisté essentiellement à citer uniquement les revues bibliographiques, dans tous les cas où il en existait de récentes, et, en l'absence de revues, à citer de préférence les dernières publications de chaque auteur.

-
- ABDEL-GHAFFAR (A. S.) et JENSEN (H. L.). — 1966. *Arch. Mikrobiol.*, **54**, 393-405.
- ABD-EL-MALEK (Y.) et RIZK (S. G.). — 1963. *J. appl. Bact.*, **26**, 14-26.
- ABD-EL-MALEK (Y.), MONIB (M.) et ZAYED (M. N.). — 1961. *Pl. Soil*, **15**, 25-36.
- ACTON (C. J.), RENNIE (D. A.) et PAUL (E. A.). — 1963. *Can. J. Soil. Sci.*, **43**, 201-209.
- ADAMS (R. S., Jr.). — 1966. *Biol. Soil*, **5**, 37-39.
- AFRIKIAN (E. G.). — 1963. *Annales Inst. Pasteur*, **105**, 123-132.
- AFSCHARPOUR (F.), RETZLAFF (E.) et MEYER (F. H.). — 1967. *NachrBl. dt. PflSchutzdienst*, **19**, 4-6.
- AGNIHOTRI (V. P.). — 1964. *Pl. Soil*, **20**, 364-370.
- AHLGREN (I. F.) et AHLGREN (C. E.). — 1965. *Ecology*, **46**, 304-310.
- AIMI (R.). — 1960. *Proc. Crop Sci. Soc. Japan*, **29**, 51-54.
- AKSEL' (M.). — 1965. *Izv. Akad. Nauk eston-SSR Ser. biol.*, **14**, 366-376.
- ALEEM (M. I. H.) et ALEXANDER (M.). — 1960. *Appl. Microbiol.*, **8**, 80-84.
- ALEEM (M. I. H.), LEES (H.), LYRIC (R.) et WEISS (D.). — 1962. *Biochem. biophys. Res. Commun.*, **7**, 126-127.
- ALEKSANDROV (V. G.). — 1958. *Soils Fertil.*, 1960. rés. n° 2589.
- ALEKSANDROVA (I. V.). — 1953. *Pochvovedenie*, n° **6**, 23-30.
- ALEKSANDROVA (I. V.). — 1962. *Soviet Soil Sci.*, 1330-1334.
- ALEKSANDROVA (L. N.). — 1966. *Zap. lenigr. sel'-khoz. Inst.*, **105**, 3-18.
- ALEKSANDROVA (L. N.) et ANDREEVA (I. M.). — 1963. *Pochvovedenie*, n° **7**, 20-26.
- ALESHINA (V. J.). — 1938. *Mikrobiologiya*, **7**, 850-859.
- ALEXANDER (M.). — 1961. *Introduction to Soil Microbiology*, John Wiley, New York.
- ALEXANDER (M.). — 1964. *Ann. Rev. Microbiol.*, **18**, 217-252.
- ALEXANDER (M.). — 1965a. *Adv. appl. Microbiol.*, **7**, 35-80.
- ALEXANDER (M.). — 1965b. In *Soil Nitrogen* (Bartholomew and Clark, ed.), Amer. Soc. of Agronomy, Madison, 307-343.
- ALEXANDER (M.). — 1965c. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **29**, 1-7.

- ALLEN (E. K.) et ALLEN (O. N.). — 1958. In *Handbuch der Pflanzenphysiologie* (Ruhland, edit.), Springer, Berlin, 48-118.
- ALLEN (E. K.) et ALLEN (O. N.). — 1964. In *Microbiol. and Soil Fert.*, Oregon State Univ. Press, 77-106.
- ALLEN (E. K.), ALLEN (O. N.) et KLEBESADEL (L. J.). — 1964. *Proceedings Fourteenth Alaskan Science Conference*, 54-63.
- ALLEN (J. D.), SILVESTER (W. B.) et KALIN (M.). — 1966. *N. Z. J. Bot.*, **4**, 57-65.
- ALLEN (O. N.). — 1957. *Experiments in Soil Bacteriology*, Burgess, Minneapolis.
- ALLEN (O. N.) et ALLEN (E. K.). — 1940. *Bot. Gaz.*, **102**, 121-142.
- ALLEN (O. N.) et ALLEN (E. K.). — 1947. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **12**, 203-208.
- ALLEN (O. N.) et BALDWIN (I. L.). — 1954. *Soil Sci.*, **78**, 415-427.
- ALLISON (F. E.). — 1964. In *Nitrogen Research*, Symposium, T.V.A., Wilson Dam, Alabama, 21-23.
- ALLISON (F. E.). — 1965. In *Soil Nitrogen* (Bartholomew and Clark, ed.), Amer. Soc. of Agronomy, Madison, 573-606.
- ALLISON (F. E.). — 1968. *Soil Sci.*, **106**, 136-143.
- ALLISON (F. E.) et COVER (R. G.). — 1960. *Soil Sci.*, **89**, 194-201.
- ALLISON (F. E.), KEFAUVER (M.) et ROLLER (E. M.). — 1953. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **17**, 107-110.
- AMOROS (M.) et DURAND (G.). — 1964. *Annales Inst. Pasteur*, **107**, 79-85.
- ANDERSON (G. R.). — 1966. *J. Bact.*, **91**, 2105-2106.
- ANDERSON (J. R.). — 1962. *Proc. 36th Congr. S. Afr. Sug. Tech. Ass.*, 112-118.
- ANDERSON (O. E.) et BOSWELL (F. C.). — 1964. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **28**, 525-529.
- AOMINE (S.). — 1962. *Soil Sci.*, **94**, 6-13.
- ARISTOVSKAYA (T. V.). — 1956. *Sixième Congrès intern. Sci. Sol*, Paris, **C**, 263-269.
- ARISTOVSKAYA (T. V.). — 1961. *Dokl. Akad. Nauk SSSR*, **136**, 111-114.
- ARISTOVSKAYA (T. V.). — 1963. *Soviet Soil Sci.*, 20-29.
- ARMSTRONG (W.). — 1967. *J. Soil Sci.*, **18**, 27-34.
- ARX (J. A. VON). — 1967. *Pilzkunde*, Cramer, Weinheim.
- ASAMI (T.) et TAKAI (Y.). — 1963. *Soil Sci. Pl. Nutr.*, **9**, 23-27.
- ATTOE (O. J.) et OLSON (R. A.). — 1966. *Soil Sci.*, **101**, 317-325.
- AUBERT (G.). — 1961. In *Trop. Soils Veget. Proc.*, Abidjan, Paris, Unesco, 41-47.
- AUGIER (J.) et MOREAU (R.). — 1960. *Annales Inst. Pasteur*, **99**, 130-141.
- AURICH (H.), MÜCKE (D.) et OBENAU (R.). — 1963. *Acta biol. med. ger.*, **11**, 311-322.
- AVNIMELECH (Y.) et NEVO (Z.). — 1964. *Soil Sci.*, **98**, 222-226.
- BAAS BECKING (L. G. M.), KAPLAN (I. R.) et MOORE (D.). — 1960. *J. Geol.*, **68**, 243-284.
- BABEL (U.). — 1964. In *Soil Micromorphology*. Proc. II. Int. Workingmeet. Soil Micromorph., Arnhem, Amsterdam, 15-22.
- BAB'EVA (I. P.) et SAVEL'EVA (N. D.). — 1963. *Mikrobiologiya*, **32**, 86-93.
- BAB'EVA (I. P.) et BEL'JANIN (A. I.). — 1966. *Mikrobiologiya*, **35**, 712-720.
- BACHELIER (G.). — 1960. *Agron. trop.*, **15**, 320-324.
- BACHELIER (G.). — 1963a. *Pedobiologia*, **2**, 153-163.
- BACHELIER (G.). — 1963b. *La vie animale dans les sols*, ORSTOM, Paris.
- BACHELIER (G.). — 1966. *Cah. Pédol. ORSTOM*, **4**, 9-22.
- BAILEY (G. W.) et WHITE (J. L.). — 1964. *Agric. Food, Chem.*, **12**, 324-332.

- BAKER (K. F.) et SNYDER (W. C.). — 1965. In *Ecology of Soil-Borne Plant Pathogens* (Baker, Snyder, ed.), University of California Press, V-VI.
- BALASSA (G.). — 1963. *Bact. Rev.*, **27**, 228-241.
- BALASSA (R.). — 1960. *Nature*, **188**, 246-247.
- BALICKA (N.). — 1965. In *Plant Microbe Relationships* (Macura, Vančura, ed.), Czechoslovak Acad. Sci., Prague, 101-108.
- BALICKA (N.) et SOBIESZCZANSKI (J.). — 1964. *Soils Fertil.*, **27**, rés. n° 3543.
- BALLONI (W.) et MATERASSI (R.). — 1966. *Annales Inst. Pasteur*, **111**, 39-48.
- BARBER (D. A.). — 1967. *J. exp. Bot.*, **18**, 163-169.
- BARBER (D. A.) et LOUGHMAN (B. C.). — 1967. *J. exp. Bot.*, **18**, 170-176.
- BARBER (D. A.), EBERT (M.) et EVANS (N. T. S.). — 1962. *J. exp. Bot.*, **13**, 397-403.
- BARBIER (G.) et CHABANNES (J.). — 1965. *Annales Inst. Pasteur*, **109**, 74-86.
- BARJAC (H. DE), TYSSET (C.), ROCHE (A.) et VACHER (B.). — 1958. *Annales Inst. Pasteur*, **95**, 88-97.
- BARNETT (H. L.). — 1963. *Ann. Rev. Microbiol.*, **17**, 1-13.
- BARRIOS (S.), RAGGIO (N.) et RAGGIO (M.). — 1963. *Pl. Physiol.*, **38**, 171-174.
- BARROW (N. J.). — 1960. *Aust. J. agric. Res.*, **2-6**, 960-969.
- BARROW (N. J.). — 1961. *Aust. J. agric. Res.*, **12**, 306-319.
- BARROW (N. J.) et JENKINSON (D. S.). — 1962. *Pl. Soil*, **16**, 258-262.
- BARTHOLOMEW (W. V.) et NORMAN (A. G.). — 1944. *J. Bact.*, **47**, 499-504.
- BARTHOLOMEW (W. V.) et CLARK (F. E.). — 1950. *Quatrième Congrès intern. Sci. Sol, Amsterdam*, **2**, 112-113.
- BARTHOLOMEW (W. F.), NELSON (L. B.) et WERKMAN (C. H.). — 1950. *Agron. J.*, **42**, 100-103.
- BASARABA (J.). — 1964. *Can. J. Soil Sci.*, **44**, 131-136.
- BASARABA (J.) et STARKEY (R. L.). — 1966. *Soil Sci.*, **101**, 17-23.
- BATEMAN (D. F.), MILLAR (R. L.). — 1966. *Ann. Rev. Phytopathol.*, **4**, 119-146.
- BAUZON (D.), BACHELIER (G.) et ROUILLER (J.). — 1967. *Rev. Ecol. Biol. Sol*, **4**, 533-551.
- BAUZON (D.), VAN DEN DRIESSCHE (R.) et DOMMERGUES (Y.). — 1969. *Sci. Sol*, **2**, 55-78.
- BAUZON (D.), BECK (G.), VAN DEN DRIESSCHE (R.) et DOMMERGUES (Y.). — 1969. *Oecol. Pl.*, **4**, 99-122.
- BAVER (L. D.). — 1961. *Soil Physics*. John Wiley, New York.
- BAYLIS (G. T. S.), MACNABB (R. F. R.) et MORRISON (T. M.). — 1963. *Trans. Br. mycol. Soc.*, **46**, 378-384.
- BEADLE (N. C. W.). — 1964. *Lin. Soc. New South Wales*, **89**, 273-286.
- BEAN (H. S.) et WALTERS (V.). — 1955. *J. Pharma. Pharmacol.*, **7**, 661-674.
- BECK (G.), DOMMERGUES (Y.) et VAN DEN DRIESSCHE (R.). — 1969. *Oecol. Pl.*, **4**, 237-266.
- BECKER (G.). — 1966. *Material u. Organismen*, **1**, 481-496.
- BECKING (J. H.). — 1961. *Pl. Soil*, **14**, 49-81 et 297-322.
- BECKING (J. H.). — 1962. *Pl. Soil*, **16**, 171-201.
- BECKING (J. H.). — 1965. *Pl. Soil*, **23**, 213-226.
- BECKING (J. H.). — 1966. *Annales Inst. Pasteur*, **111**, 211-246.
- BECKING (J. H.), DE BOER (W. E.) et HOUWINK (A. L.). — 1964. *Antonie van Leeuwenhoek*, **30**, 343-376.
- BEIJERINCK (M. W.). — 1888. *Bot. Ztg.*, **46**, 725-735, 741-750, 757-771, 781-790, 797-804.
- BENOIT (R. E.) et STARKEY (R. L.). — 1968. *Soil Sci.*, **105**, 203-208 et 291-296.
- BENOIT (R. E.), STARKEY (R. L.) et BASARABA (J.). — 1968. *Soil Sci.*, **105**, 153-158.
- BERGERSEN (F. J.). — 1962. *J. gen. Microbiol.*, **29**, 55-56.

- BERGERSEN (F. J.). — 1967. *Second intern. Conf. on G.I.A.M., Addis Ababa* (sous presse).
- BERGERSEN (F. J.) et COSTIN (A. B.). — 1964. *Aust. J. biol. Sci.*, **17**, 44-48.
- BERGERSEN (F. J.) et TURNER (G. L.). — 1967. *Biochim. biophys. Acta*, **141**, 507-515.
- BERGERSEN (F. J.), KENNEDY (G. S.) et WITTMANN (W.). — 1965. *Aust. J. biol. Sci.*, **18**, 1135-1142.
- BERNARD (U. V.) et GELLER (I. T.). — 1962. *Agrobiologiya*, **4**, 610-616.
- BERNIER (B.). — 1958. *Biochem. J.*, **70**, 590-599.
- BERNIER (B.). — 1960. *Observations sur le métabolisme respiratoire de quelques humus forestiers*, Université Laval, Québec.
- BERNIER (B.) et ROBERGE (M.). — 1962. *Fonds de Rech. For. Univers. Laval*, Contribution n° 9.
- BERNSTEIN (L.) et OGATA (G.). — 1966. *Agron. J.*, **58**, 201-203.
- BERTHELOT (M.). — 1885. *C. r. hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris*, **101**, 775-784.
- BÉTRÉMIEUX (R.). — 1951. *Annales agron.*, **3**, 193-295.
- BÉTRÉMIEUX (R.) et HÉNIN (S.). — 1965. In *Experimental Pedology* (Hallsworth, Crawford, ed.), Butterworths, London, 179-188.
- BHAUMIK (H. D.) et CLARK (F. E.). — 1947. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, 234-238.
- BINGHAM (F. T.), SIMS (J. R.) et PAGE (A.). — 1965. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **29**, 670-672.
- BIRCH (H. F.). — 1959. *Pl. Soil*, **11**, 262-286.
- BIRCH (H. F.). — 1960. *Trop. Agric. Trin.*, **37**, 3-10.
- BIRCH (H. F.). — 1961. *Pl. Soil*, **15**, 347-366.
- BIRCH (H. F.). — 1964. *Pl. Soil*, **21**, 391-394.
- BIRCH (H. F.) et FRIEND (M. T.). — 1956. *Nature*, **178**, 500.
- BIRCH (H. F.) et FRIEND (M. T.). — 1961. *Nature*, **191**, 731-732.
- BIRECKI (M.) et GASTOL (J.). — 1964. *Roczn. glebozn.*, **14**, 59-72.
- BJÄLFVE (G.). — 1962. *Physiologia Pl.*, **15**, 122-129.
- BJÖRKMAN (E.). — 1942. *Symb. Bot. Upsaliens*, **6**.
- BLINKOV (G. N.) et NOVOSELOVA (A. N.). — 1960. *Mikrobiologiya*, **28**, 911-915.
- BLISS (D. E.). — 1951. *Phytopathology*, **41**, 665-683.
- BLOOMFIELD (C.). — 1951. *J. Soil Sci.*, **2**, 196-211.
- BLOOMFIELD (C.). — 1963. *Rep. Rothamsted exp. Stn.*, 226-239.
- BLOOMFIELD (C.). — 1965. In *Experimental Pedology* (Hallsworth, Crawford, ed.), Butterworths, London, 257-266.
- BOCHOW (H.). — 1965. In *Plant Microbe Relationships* (Macura, Vančura, ed.), Czechos. Acad. Sci., Prague, 296-299.
- BOCOCK (K. L.). — 1963. *J. Ecol.*, **51**, 555-566.
- BOER (S. DE). — 1962. *Tijdschr. PlZiekt.*, **68**, 268-277.
- BOGDANOV (N. I.). — 1962. *Trudy omsk. sel'-khoz. Inst.*, **49**, 37-48.
- BOND (G.). — 1963. *Symp. Soc. gen. Microbiol.*, **13**, 72-91.
- BOND (G.). — 1967. *Ann. Rev. Pl. Physiol.*, **18**, 107-126.
- BOND (G.) et SCOTT (G. D.). — 1955. *Ann. Bot.*, **19**, 67-77.
- BOND (G.) et HEWITT (E. J.). — 1967. *Pl. Soil*, **27**, 447-449.
- BOND (R. D.). — 1964. *Aust. J. Soil Res.*, **2**, 123-131.
- BOND (R. D.) et HARRIS (J. R.). — 1964. *Aust. J. Soil Res.*, **2**, 111-122.
- BONFILS (P.). — 1963. *Agron. trop.*, **18**, 1254-1279.
- BONNEAU (M.), DUCHAUFOR (P.) et MANGENOT (F.). — 1964. *Annales Inst. Pasteur*, **107**, 109-122.
- BONNER (J. T.). — 1948. *Mycologia*, **40**, 728-738.

- BONNER (F. T.) et RALSTON (C. W.). — 1968. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **32**, 111-112.
- BONNET (L.). — 1964. *Rev. Ecol. Biol.*, **1**, 123-408.
- BONNIER (C.). — 1953. *Sixième Congrès int. Microbiol.*, **16**, 325-327.
- BONNIER (C.). — 1960. *Annales Inst. Pasteur*, **98**, 537-556.
- BONNIER (C.). — 1962. *Annales Inst. Pasteur*, **103**, 403-409.
- BONNIER (C.) et LEBRUN (F.). — 1963. *Annales Inst. Pasteur*, **105**, 133-142.
- BONNIER (C.) et LEBRUN (F.). — 1965. *Annales Inst. Pasteur*, **109**, 95-102.
- BOOSALIS (M. G.) et MANKAU (F.). — 1965. In *Ecology of Soil-borne Plant Pathogens* (Baker, Snyder, ed.), Univ. California Press, 374-391.
- BOOTH (G. H.). — 1964. *J. appl. Bact.*, **27**, 174-181.
- BÖRNER (H.). — 1967. *Z. PflKrankh. PflPath. PflSchutz*, **74**, 135-143.
- BOULLARD (B.). — 1961. *Bull. Soc. linn. Normandie*, **10**, 30-46.
- BOULLARD (B.). — 1964. *Bull. Soc. fr. Physiol. végét.*, **10**, 292-299.
- BOULLARD (B.). — 1967. *Vie intense et cachée du sol, essai de pédobiologie végétale*, Flammarion, Paris.
- BOULLARD (B.). — 1968. *Les mycorrhizes*, Masson et C^{ie}, Paris.
- BOULLARD (B.) et MOREAU (R.). — 1962. *Sol, microflore et végétation*, Masson et C^{ie}, Paris.
- BOUSSINGAULT (M.). — 1838. *Ann. Chim. Phys.*, 2^e sér., **67**, 5-54.
- BOWEN (H. J. M.) et CAWSE (P. A.). — 1962. *Radioisotopes Soil Pl. Nutr. Stud. Proc. Symp. Bombay*, 17-30.
- BOWEN (H. J. M.) et CAWSE (P. A.). — 1964. *Soil Sci.*, **97**, 252-259.
- BOYD (W. L.) et BOYD (J. W.). — 1964. *Can. J. Microbiol.*, **10**, 917-919.
- BRAKEL (J.). — 1963. *Annales Inst. Pasteur*, **105**, 143-149.
- BRAKEL (J.) et HILGER (F.). — 1965. *Bull. Inst. agr. Gembloux*, **33**, 469-487.
- BRANDT (G. H.), WOLCOTT (A. R.) et ERICKSON (A. E.). — 1964. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **28**, 71-75.
- BRAVERY (A. F.). — 1968. *J. Sci. Food Agric.*, **19**, 133-135.
- BREED (R. S.), MURRAY (E. G. D.) et SMITH (N. R.). — 1957. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, Williams, Wilkins, Baltimore.
- BREMNER (J. M.). — 1965. In *Soil Nitrogen* (Bartholomew, Clark, ed.), Amer. Soc. Agron., Madison, 93-149.
- BREMNER (J. M.). — 1967. In *Soil Biochemistry* (MacLaren, Peterson, ed.), Marcel Dekker, New York, 19-58.
- BREMNER (J. M.) et SHAW (K.). — 1957. *J. agric. Sci.*, **46**, 320-328.
- BREMNER (J. M.) et SHAW (K.). — 1958. *J. agric. Sci.*, **51**, 22-29 et 40-51.
- BREMNER (J. M.) et KEENEY (D. R.). — 1966. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **30**, 577-594.
- BREMNER (J. M.), FLAIG (W.) et KÜSTER (E.). — 1955. *Z. PflErnähr. Düng. Bodenkn.*, **71**, 58-63.
- BRIAN (P. W.), WRIGHT (J. M.), STUBBS (J.) et WAY (A. M.). — 1951. *Nature*, **167**, 347.
- BRIGGS (M. H.) et SPEDDING (D. J.). — 1963. *Sci. Progr. Lond.*, **51**, 217-225.
- BRIND (J. E.). — 1965. *For. Comm. Bull.*, **37**, 206-209.
- BRISBANE (P. G.) et LADD (J. N.). — 1965. *Ann. Rev. Microbiol.*, 351-364.
- BROADBENT (F. E.). — 1954. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **18**, 165-169.
- BROADBENT (F. E.). — 1966. *Hilgardia*, **37**, 165-180.
- BROADBENT (F. E.) et TYLER (K. B.). — 1962. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **26**, 459-462.
- BROADBENT (F. E.) et TYLER (K. B.). — 1965. *Pl. Soil*, **23**, 214-322.
- BROADBENT (F. E.) et CLARK (F.). — 1965. In *Soil Nitrogen* (Bartholomew, Clark, ed.), Soc. of Agronomy, Madison, 344-359.

- BROADBENT (F. E.) et NAKASHIMA (T.). — 1967. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **31**, 648-652.
- BROADBENT (F. E.), JACKMAN (R. H.) et McNICOLL (J.). — 1964. *Soil Sci.*, **98**, 118-128.
- BROCK (T. D.). — 1966. *Principles of Microbial Ecology*. Prentice-Hall, New Jersey.
- BROCKWELL (J.) et HELY (F. W.). — 1966. *Aust. J. agric. Res.*, **17**, 885-899.
- BROMFIELD (S. M.). — 1954. *J. Soil Sci.*, **5**, 129-139.
- BROMFIELD (S. M.). — 1956. *Aust. J. biol. Sci.*, **9**, 238-252.
- BROMFIELD (S. M.) et SKERMAN (V. B. D.). — 1950. *Soil Sci.*, **69**, 337-348.
- BROWN (R.). — 1933. *J. agric. Sci.*, **23**, 527-540.
- BROWN (M. E.) et METCALFE (G.). — 1957. *Nature*, **180**, 282.
- BROWN (M. E.), BURLINGHAM (S. K.) et JACKSON (R. M.). — 1964. *Pl. Soil*, **20**, 194-214.
- BROWN (M. E.), JACKSON (R. M.) et BURLINGHAM (S. K.). — 1968. In *The Ecology of Soil Bacteria* (Gray, Parkinson, ed.), Liverpool Univ. Press, 531-551.
- BROWNING (B. L.). — 1963. *The Chemistry of Wood*. Interscience, New York.
- BRUCKERT (S.) et DOMMERGUES (Y.). — 1968. *Sci. Sol.*, **1**, 19-27.
- BRUCKERT (S.), JACQUIN (F.), METCHE (M.). — 1967. *Bull. Ec. nat. sup. agron. Nancy*, **9**, 73-92.
- BRYSSINE (I.). — 1964. *Al Awamia*, **11**, 89-110.
- BUCKMAN (H. O.) et BRADY (N. C.). — 1960. *The Nature and Properties of Soils*, Macmillan, New York.
- BUKATSCH (F.) et SÄURIG (D.). — 1963. *Zentbl. Bakt. ParasitKde*, **II**, **117**, 117-128.
- BUNT (J.) et ROVIRA (A.). — 1955. *J. Soil Sci.*, **6**, 129-136.
- BURGEFF (H.). — 1961. *Mikrobiologie des Hochmoores*, G. Fischer, Stuttgart.
- BURGES (A.). — 1958. In *Micro-organisms in the Soil*, Hutchinson University Library, London.
- BURGES (A.). — 1960a. In *The Ecology of Soil Fungi* (Parkinson, Waid, ed.), Liverpool Univ. Press, 185-191.
- BURGES (A.). — 1960b. *Seventh Int. Congr. Soil Sci., Madison*, **2**, 128-133.
- BURGES (A.). — 1965a. In *Ecology of Soil-borne Plant Pathogens* (Baker, Snyder, ed.), Univ. California Press, 21-32.
- BURGES (A.). — 1965b. In *Experimental Pedology* (Hallsworth, Crawford, ed.), Butterworths, London, 189-198.
- BURGES (A.) et FENTON (E.). — 1953. *Trans. Br. mycol. Soc.*, **36**, 104-108.
- BURGES (A.) et LATTER (A.). — 1960. *Nature*, **186**, 404-405.
- BURGES (A.), HURST (H. M.) et WALKDEN (B.). — 1964. *Geochim. cosmochim. Acta*, **28**, 1547-1554.
- BURTON (J. C.). — 1964. In *Microbiology and Soil Fertility*, Oregon State University Press, 108-129.
- BUXTON (E. W.). — 1957. *Trans. Br. mycol. Soc.*, **40**, 145-154.
- BUXTON (E. W.), KHALIFA (O.) et WARD (V.). — 1965. *Ann. appl. Biol.*, **55**, 83-88.
- CACCIARI (I.). — 1966. *Agrochimica*, **10**, 142-148.
- CADMAN (C. H.). — 1965. In *Ecology of Soil-borne Plant Pathogens* (Baker, Snyder, ed.), Univ. Calif. Press, 302-313.
- CADY (F. B.) et BARTHOLOMEW (W. V.). — 1961. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **25**, 362-365.
- CAIRNS (R. R.). — 1963. *Can. J. Soil Sci.*, **43**, 387-392.
- CALDER (E. A.). — 1959. *Nature*, **184**, 746-747.
- CAMERON (R. E.). — 1960. *J. Ariz. Acad. Sci.*, **1**, 85-88.
- CAMERON (R. E.) et FULLER (W. H.). — 1960. *Proc. Soil. Sci. Soc. Am.*, **24**, 353-356.
- CAMERON (R. E.). — 1964. *Trans. Am. microsc. Soc.*, **83**, 212-218.

- CAMERON (R. E.) et BLANK (G. B.). — 1966. *JLP tech. Rep.*, **32-971**.
- CAMERON (R. E.). — 1966. *Space Progr. Summ.*, **4**, 174-181.
- CAMPBELL (N. E. R.) et LEES (H.). — 1967. In *Soil Biochemistry* (McLaren, Peterson, ed.), Marcel Dekker, New York, 194-215.
- CARLISLE (A.). — 1965. *Pl. Soil*, **22**, 399-400.
- CARTWRIGHT (K. St. G.) et FINDLAY (W. P. K.). — 1946. *Decay of Timber and its Prevention*.
- CARTWRIGHT (P. M.) et SNOW (D.). — 1962. *Ann. Bot., N. S.*, **26**, 251-259.
- CASIDA (L. E.). — 1968. In *The Ecology of Soil Bacteria* (Gray, Parkinson, ed.), Liverpool Univ. Press, 97-122.
- CASIDA (L. E.), KLEIN (D. A.) et SANTORO (T.). — 1964. *Soil Sci.*, **98**, 371-376.
- CÁTSKÁ (V.). — 1965. In *Plant Microbe Relationships* (Macura, Vančura, ed.), 60-68, Czechos. Acad. Sci., Prague.
- CENTIFANTO (Y. M.) et SILVER (W. S.). — 1964. *J. Bact.*, **88**, 776-781.
- CHABANNES (J.) et BARBIER (G.). — 1967. *C. r. hebd. Séances Acad. Agric. Fr.*, **53**, 96-102.
- CHACKO (C. I.), LOCKWOOD (J. L.) et ZABIK (M.). — 1966. *Science*, **154**, 893-895.
- CHALVIGNAC (M. A.). — 1966. *Annales Inst. Pasteur*, **110**, 603-622.
- CHALVIGNAC (M. A.). — 1968. *C. r. hebd. Séances Acad. Sci., Paris*, **266**, 637-639.
- CHALVIGNAC (M. A.) et FALCOU (J.). — 1966. *Annales Inst. Pasteur*, **111**, 49-56.
- CHAMINADE (R.). — 1955. *Potassium Symposium*, Rome, 203-214.
- CHAMINADE (R.). — 1956. *Sixième Congrès intern. Sci. Sol, Paris*, **D**, 443-448.
- CHAMINADE (R.). — 1966. *FAO/IAEA Technical Meeting*, Brunswick-Völkenrode, 35-48.
- CHAMINADE (R.) et DROUINEAU (G.). — 1936. *Annales agron.*, **6**, 677-690.
- CHAMPION (J.), DUGAIN (F.), MAIGNIEN (R.) et DOMMERGUES (Y.). — 1958. *Fruits*, **13**, 415-462.
- CHAN (E. C. S.) et KATZNELSON (H.). — 1961. *Can. J. Microbiol.*, **7**, 759-767.
- CHAN (E. C. S.), KATZNELSON (H.) et ROUATT (J. W.). — 1963. *Can. J. Microbiol.*, **9**, 187-197.
- CHANDRA (P.). — 1961. *Curr. Sci.*, **30**, 325-326.
- CHANDRA (P.). — 1962. *Can. J. Soil Sci.*, **42**, 314-315.
- CHANG (P. C.) et KNOWLES (R.). — 1965. *Can. J. Microbiol.*, **11**, 29-38.
- CHAPMAN (H. D.). — 1965. In *Ecology of Soil-borne Plant Pathogens* (Baker, Snyder, ed.), Univ. Calif. Press, 120-141.
- CHARPENTIER (M.). — 1968. *Annales Inst. Pasteur*, **115**, 497-537.
- CHARPENTIER (M.) et POCHON (J.). — 1962. *Annales Inst. Pasteur*, **102**, 501-504.
- CHASTUKHIN (V. J. A.) et NIKOLAEVSKAJA (M. A.). — 1962. *Uchen. Zap. leningr. gos. pedagog. Inst. Gertsena, sér. biol.*, **313**, 23-33.
- CHAUSSIDON (J.). — 1963. *Bull. Soc. fr. Physiol. vég.*, **9**, 220-223.
- CHEN (A. W.) et GRIFFIN (D. M.). — 1966. *Trans. Br. mycol. Soc.*, **49**, 551-561.
- CHEN (H. K.) et CHOU (C.). — 1964. *Huitième Congrès intern. Sci. Sol, Bucarest*, **3**, 761-770.
- CHESTERS (C. G. C.). — 1949. *Trans. Br. mycol. Soc.*, **32**, 197-216.
- CHESTERS (G.), ATTOE (O. J.) et ALLEN (O. N.). — 1957. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **21**, 272-277.
- CHU (J. P.-H.) et KNOWLES (R.). — 1966. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **30**, 210-213.
- CLAPP (C. E.) et EMERSON (W. W.). — 1965. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **29**, 127-134.
- CLAPP (C. E.), DAVIS (R. J.) et WAUGAMAN (S. H.). — 1962. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **26**, 466-469.
- CLARK (F. E.). — 1962. *Intern. Soil Conf., New Zealand, Palmerston*, 173-176.
- CLARK (F. E.). — 1964. In *Nitrogen Research*, Symposium, Tennessee Valley Authority, Wilson Dam, Alabama, 18-23.

- CLARK (F. E.). — 1965. In *Ecology of Soil-borne Plant Pathogens* (Baker, Snyder, ed.), Univ. Calif. Press, 339-347.
- CLARK (F. E.). — 1967. In *Soil Biology* (Burges, Raw, ed.), Academic Press, London, 15-49.
- CLARK (F. E.), JACKSON (R. D.) et GARDNER (H. R.). — 1962. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **26**, 155-160.
- CLAYTON (M. F.) et LAMBERTON (J. A.). — 1964. *Aust. J. biol. Sci.*, **17**, 855-866.
- CLOONAN (M. J.). — 1963. *Rhizobium Newsletter*, **8**, 133-134.
- CLOONAN (M. J.) et VINCENT (M. J.). — 1967. *Aust. J. exp. Agric. Anim. Husb.*, **7**, 181-189.
- COLENO (A.), RAPILLY (F.), PIONNAT (J. C.) et AUGÉ (G.). — 1965. *Annales Epiphyt.*, **16**, 267-278.
- COMBEAU (A.). — 1965. *Cah. Pédol. ORSTOM*, **3**, 123-138.
- COMBEAU (A.), OLLAT (C.) et QUANTIN (P.). — 1961. *Fertilité*, **13**, 27-40.
- CONN (H. J.), BOTTCHE (E. J.) et RANDALL (C.). — 1945. *J. Bact.*, **49**, 359-373.
- CONRAD (J. P.). — 1940. *Soil Sci.*, **50**, 119-134.
- COOKE (R. C.). — 1964. *Ann. appl. Biol.*, **54**, 375-379.
- COOKE (R. C.). — 1968. *Phytopathology*, **58**, 909-913.
- COONEY (D. G.) et EMERSON (R.). — 1964. *Thermophilic Fungi*, Freeman, San Francisco.
- COOPER (R.). — 1959. *Soils Fertil.*, **22**, 327-333.
- CORDEN (M. E.) et YOUNG (R. A.). — 1965. *Soil Sci.*, **99**, 272-277.
- CORKE (C. T.) et CHASE (F. E.). — 1964. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **28**, 68-70.
- CORKE (C. T.) et ROBINSON (J. B.). — 1966. *Nature*, **211**, 1202-1203.
- CORNFIELD (A. H.). — 1964. *Pl. Soil*, **20**, 260-264.
- COULSON (C. B.), DAVIES (R. I.) et LEWIS (D. A.). — 1960. *J. Soil Sci.*, **11**, 20-29 et 30-34.
- COWLEY (G. T.) et WHITTINGHAM (W. F.). — 1961. *Mycologia*, **53**, 539-542.
- COWLING (E. B.). — 1963. In *Adv. enzym. Hydrol. Cell Rel. Mat* (Reese, ed.), Pergamon, Oxford, 1-32.
- CRAMPTON (C. B.). — 1962. *Soils Fertil.*, **27**, rés. n° 2778.
- CRAWFORD (D. V.). — 1956. *Sixième Congrès intern. Sci. Sol, Paris*, **C**, 197-202.
- CUNNINGHAM (R. K.). — 1962. *J. agric. Sci.*, **59**, 257-262.
- CUTLER (D. W.). — 1923. *Ann. appl. Biol.*, **10**, 137-141.
- CUTLER (D. W.) et CRUMP (L. M.). — 1933. *Ann. appl. Biol.*, **20**, 291-296.
- DAFT (M. J.) et NICOLSON (T. H.). — 1966. *New Phytol.*, **65**, 343-350.
- DAGLEY (S.). — 1967. In *Soil Biochemistry* (McLaren, Peterson, ed.), Marcel Dekker, New York, 287-317.
- DART (P. J.) et MERCER (F. V.). — 1964. *Arch. Mikrobiol.*, **47**, 344-378.
- DART (P. J.) et MERCER (F. V.). — 1965. *Aust. J. Agric. Res.*, **16**, 321-345.
- DASTE (Ph.). — 1958. *Revue Cytol. Biol. vég.*, **XIX**, suppl. 1, 251 p.
- DATE (R. A.) et DECKER (A. M.). — 1965. *Can. J. Microbiol.*, **11**, 1-8.
- DAVENPORT (H. E.). — 1960. *Nature*, **186**, 653-654.
- DAVEY (C. B.). — 1955. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **19**, 376-377.
- DAVEY (C. B.) et PAPAVIZAS (G. C.). — 1961. *Science*, **134**, 1368-1369.
- DAVEY (C. B.) et PAPAVIZAS (G. C.). — 1963. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **27**, 164-167.
- DAVIES (R. I.), COULSON (C. B.) et LEWIS (D. A.). — 1960. *Scient. Proc. R. Dubl. Soc. Ser. A*, **1**, 183-190.
- DAVIES (R. I.), COULSON (C. B.) et LEWIS (D. A.). — 1964. *J. Soil Sci.*, **15**, 299-318.
- DAVIS (J. B.) et UPDEGRAFF (D. M.). — 1954. *Bact. Rev.*, **18**, 215-238.

- DAVIS (R. J.), SHELDON (V. L.) et AUERBACH (S. I.). — 1956. *J. Bact.*, **152**, 505-510.
- DE (P. K.) et SULAIMAN (M.). — 1950. *Soil Sci.*, **70**, 137-151.
- DE (P. K.) et MANDAL (L. N.). — 1956. *Soil Sci.*, **81**, 453-458.
- DEEVEY (E. S.), NAKAI (N.) et STUIVER (M.). — 1963. *Science*, **139**, 407-408.
- DE LEY (J.) et RASSEL (A.). — 1965. *J. gen. Microbiol.*, **41**, 85-91.
- DE LEY (J.) et PARK (I. W.). — 1966. *Antonie van Leeuwenhoek*, **32**, 6-16.
- DELVER (P.) et POST (A.). — 1968. *Pl. Soil*, **28**, 325-336.
- DELWICHE (C. C.) et WIJLER (J.). — 1956. *Pl. Soil*, **7**, 113-129.
- DEMOLON (A.) et HÉNIN (S.). — 1932. *Recherche sur le sol*, **3**, 1-9.
- DEMOLON (A.) et DUNEZ (A.). — 1933. *C. r. hebd. Séances Acad. Sci. Paris*, **197**, 1344-1346.
- DÉNARIÉ (J.). — 1968. *C. r. hebd. Séances Acad. Agric., Paris*, **54**, 651-658.
- DÉNARIÉ (J.) et BLACHÈRE (H.). — 1966. *Annales Inst. Pasteur*, **111**, 57-74.
- DERX (H. G.). — 1950. *Kon. Ned. Akad. Wetenschap. Proc.*, **53**, 140-146.
- DEUEL (H.), DUBACH (P.), MEHTA (N. C.) et BACH (R.). — 1960. *Schweiz. Z. Hydrol.*, **22**, 111-121.
- DHAR (N. R.). — 1953. *J. Indian chem. Soc.*, **30**, 295-330.
- DHAR (N. R.), BATTACHARY (A. K.) et BISWAS (N. N.). — 1933. *Soil Sci.*, **35**, 281-284.
- DIDIER DE SAINT-AMAND (R.). — 1967. *Thèse Fac. Sci. Nancy*.
- DIEM (H. G.). — 1967. *Bull. Ec. nat. supér. agron. Nancy*, **9**, 102-108.
- DILWORTH (M. J.). — 1966. *Biochim. biophys. Acta*, **127**, 285-294.
- DI MENNA (M. E.). — 1960. *N. Z. J. agric. Res.*, **3**, 623-632.
- DI MENNA (M. E.). — 1966a. *Antonie van Leeuwenhoek*, **32**, 25-28.
- DI MENNA (M. E.). — 1966b. *N. Z. J. Bot.*, **4**, 406-417.
- DINCHEV (D.). — 1965. In *Plant Microbe Relationships* (Macura, Vančura, ed.), Czechos. Acad. Sci. Prague, 251-255.
- DOBBS (G. C.) et GRIFFITHS (D. A.). — 1960. *Report Forest Research*, For. comm. Lond., 87-92.
- DOBBS (G. C.) et HINSON (W. H.). — 1960. In *The Ecology of Soil Fungi* (Parkinson, Waid, ed.), Liverpool Univ. Press, 33-42.
- DOBBS (G. C.), HINSON (W. H.) et BYWATER (J.). — 1960. In *The Ecology of Soil Fungi* (Parkinson, Waid, ed.), Liverpool Univ. Press, 130-147.
- DÖBEREINER (J.). — 1959. *Rev. Brasil. Biol.*, **19**, 151-160.
- DÖBEREINER (J.). — 1961. *Pl. Soil*, **15**, 211-216.
- DÖBEREINER (J.). — 1964. *Biol. Sol*, **2**, 33.
- DÖBEREINER (J.). — 1966a. *Pesq. agropec. bras.*, **1**, 357-365.
- DÖBEREINER (J.). — 1966b. *Pl. Soil*, **24**, 153-166.
- DÖBEREINER (J.) et ALVAHYDO (R.). — 1960. *Rev. Brasil. Microbiol.*, **2**, 1-11.
- DÖBEREINER (J.) et ALVAHYDO (R.). — 1967. *Pesq. agropec. bras.*, **1**, 243-248.
- DÖBEREINER (J.), ARRUDA (N. B.) et PENTEADO (A. DE F.). — 1965. *Ninth Grassland Congress, São Paulo*, **13**, 1153-1157.
- DOMMERGUES (Y.). — 1952a. *Mémoires Inst. scient. Madagascar*, **D, 4**, 169-180.
- DOMMERGUES (Y.). — 1952b. *Mémoires Inst. scient. Madagascar*, **D, 4**, 273-286.
- DOMMERGUES (Y.). — 1953. *Mémoires Inst. scient. Madagascar*, **D, 5**, 328-335.
- DOMMERGUES (Y.). — 1954. *Mémoires Inst. scient. Madagascar*, **D, 6**, 115-148.
- DOMMERGUES (Y.). — 1956a. *Sixième Congrès intern. Sci. Sol, Paris*, **C**, 381-387.
- DOMMERGUES (Y.). — 1956b. *Sixième Congrès intern. Sci. Sol, Paris*, **E**, 605-610.
- DOMMERGUES (Y.). — 1960. *Agron. trop. Paris*, **15**, 381-389.

- DOMMERGUES (Y.). — 1962. *Annales agron.*, **13**, 265-324 et 391-468.
- DOMMERGUES (Y.). — 1963a. *Annales Inst. Pasteur*, **105**, 179-187.
- DOMMERGUES (Y.). — 1963b. *Bois et Forêts des Tropiques*, **87**, 9-25.
- DOMMERGUES (Y.). — 1963c. *Agrochimica*, **7**, 335-340.
- DOMMERGUES (Y.). — 1964. *Sci. Sol*, 141-155.
- DOMMERGUES (Y.). — 1966. *Annales Inst. Pasteur*, **111**, 247-258.
- DOMMERGUES (Y.). — 1968. *Annales Inst. Pasteur*, **115**, 627-656.
- DOMMERGUES (Y.) et DUCHAUFOR (Ph.). — 1965. *Sci. Sol*, **1**, 43-59.
- DOMMERGUES (Y.) et MUTAFTSCHIEV (S.). — 1965. *Annales Inst. Pasteur*, **109**, 112-120.
- DOMMERGUES (Y.) et DUCHAUFOR (Ph.). — 1966. *Revue Ecol. Biol. Sol*, **3**, 533-547.
- DOMMERGUES (Y.) et DUSAUSOY (M.). — 1966. *Biol. Sol*, **5**, 23-27.
- DOMMERGUES (Y.), COMBREMONT (R.), BECK (G.) et OLLAT (G.). — 1969a. *Rev. Ecol. Biol. Sol*, **6**, 115-129.
- DOMMERGUES (Y.), JACQ (V.) et BECK (G.). — 1969b. *C. r. hebd. Séances Acad. Sci., Paris*, **268**, 605-608.
- DOMSCH (K.). — 1962. *Zentbl. Bakt. ParasitKde*, **116**, 33-78.
- DOMSCH (K.). — 1963. *Mitt. biol. BundAnst. Ld- u. Forstw.*, **107**.
- DOMSCH (K.). — 1964a. *Ann. Rev. Phytopath.*, **2**, 293-320.
- DOMSCH (K.). — 1964b. *Phytopath. Z.*, **49**, 291-302.
- DOMSCH (K.). — 1965. *Phytopath. Z.*, **52**, 1-18.
- DROBNIK (J.). — 1961. *Can. J. Microbiol.*, **7**, 768-775.
- DROBNIKOVA (V.). — 1961. *Folia Microbiol.*, **6**, 260-267.
- DROBNIKOVA (V.) et DROBNIK (J.). — 1965. *Zentbl. Bakt. ParasitKde*, **119**, 714-729.
- DROUINEAU (G.). — 1965. *Annales Inst. Pasteur*, **115**, 7-18.
- DROUINEAU (G.), LEFEVRE (G.) et BLANC-AICARD (D.). — 1953. *C. r. hebd. Séances Acad. Sci. Paris*, **236**, 524-526.
- DROZDOVA (T. V.). — 1963. *Soviet Soil Sci.*, **8**, 753-758.
- DROZDOWICZ (A.) et HORSZCZARUK (I.). — 1966. *Ekol. Pol. Ser. A*, **14**, 711-724.
- DUBACH (P.) et MEHTA (N. C.). — 1963. *Soils Fertil.*, **26**, 293-300.
- DUBACH (P.), MEHTA (N. C.) et DEUEL (H.). — 1963. *Z. PflErnähr. Düng. Bodenkn.*, **102**, 1-7.
- DUBACH (P.), ZWEIFEL (G.), BACH (R.) et DEUEL (H.). — 1955. *Z. PflErnähr. Düng. Bodenkn.*, **69**, 97-108.
- DUCHAUFOR (Ph.). — 1965. *Précis de Pédologie*, Masson et C^{ie}, Paris.
- DUCHAUFOR (Ph.). — 1968. *L'évolution des sols*, Masson et C^{ie}, Paris.
- DUCHAUFOR (Ph.) et MANGENOT (F.). — 1956. *Annales agron.*, **2**, 159-181.
- DUCHAUFOR (Ph.) et JACQUIN (F.). — 1957. *C. r. hebd. Séances Acad. Sci. Paris*, **244**, 1256-1258.
- DUCHAUFOR (Ph.) et JACQUIN (F.). — 1959. *C. r. hebd. Séances Acad. Agric. Fr.*, **45**, 516-519.
- DUDDINGTON (C. L.). — 1962. *The Friendly Fungi, Viewpoints in Biology*, **I**, Macmillan.
- DUDDINGTON (C. L.). — 1963. In *Soil Organisms* (Doeksen, Van der Drift, ed.), North-Holland, Amsterdam, 298-304.
- DUDMAN (W. F.). — 1965. *J. Immunol.*, **95**, 704-717.
- DUFF (R. B.) et WEBLEY (D. M.). — 1959. *Chem. Ind. London*, 1376-1377.
- DUMBROFF (E. B.). — 1968. *Pl. Soil*, **28**, 463-466.
- DUNCAN (C. G.). — 1959. *Sixteenth Gen. Meet. Develop. Industr. Microbiol.*, 148-156.
- DUNCAN (D. W.), LANDESMAN (J.) et WALDEN (C. C.). — 1967. *Can. J. Microbiol.*, **13**, 397-403.
- DU PLESSIS (L. M.) et PAULI (F. W.). — 1967. *S. Afr. J. agric. Sci.*, **10**, 101-112.

- DURAND (G.). — 1964. *Annales Inst. Pasteur*, **107**, 136-147.
DURAND (G.). — 1965. *Rev. Ecol. Biol. Sol*, **2**, 141-205.
DURAND (G.). — 1966. *Thèse Fac. Sci. Toulouse*, 233 p.
DURRELL (L. W.) et SHIELDS (L. M.). — 1961. *Trans. Am. microsc. Soc.*, **80**, 73-79.
- EDWARDS (A. P.). — 1966. *Soil Chem. Fertil., Aberdeen*, 33-38.
EDWARDS (C. A.). — 1964. *Soils Fertil.*, **27**, 451-454.
EKPETE (D. M.) et CORNFIELD (A. H.). — 1964. *Nature*, **201**, 322-323.
ELAROSI (H.). — 1957. *Annals Botany, London*, **21**, 555-567.
ELKAN (G. H.). — 1962. *Can. J. Microbiol.*, **8**, 79-87.
ELLIS (G. P.). — 1959. *Adv. Carboh. Chem.*, **14**, 63-134.
EMTSEV (V. T.). — 1962. *Soils Fertil.*, **26**, rés. n° 243.
ENDERS (C.) et SIGURDSON (S.). — 1947. *Biochem. Z.*, **318**, 44-46.
ENO (C. F.) et REUSZER (H. W.). — 1955. *Soil Sci.*, **80**, 199-209.
ENO (C. F.) et POPENOE (H.). — 1963. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **27**, 299-301.
ENWEZOR (W. O.). — 1966. *Soil Sci.*, **103**, 62-66.
EREN (J.) et PRAMER (D.). — 1965. *Soil Sci.*, **99**, 285.
ERNST (D.). — 1967. *Z. Pflernähr. Düng. Bodenk.*, **117**, 34-44.
EROFEEV (N. S.) et VOSTROV (I. S.). — 1964. *Isot. Rayon. Agric.*, **2**, rés. n° 1781.
ESTERMANN (E. F.) et McLAREN (A. D.). — 1959. *J. Soil Sci.*, **10**, 64-78.
ESTERMANN (E. F.) et McLAREN (A. D.). — 1961. *Pl. Soil*, **15**, 243-260.
ESTERMANN (E. F.), PETERSON (G. H.) et McLAREN (A. D.). — 1959. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **23**, 31-36.
ETTLINGER (L. VON). — 1962. *Schweiz. landw. Forsch.*, **1**, 231-251.
EVANS (E.). — 1955. *Trans. Br. mycol. Soc.*, **38**, 335-346.
EYLAR (D. R.) et SCHMIDT (E. L.). — 1959. *J. gen. Microbiol.*, **20**, 473-481.
- FÄHRAEUS (G.) et LJUNGGREN (H.). — 1959. *Physiologia Pl.*, **12**, 145-154.
FALLOT (J.). — 1964. *Thèse Fac. Sci. Toulouse*.
FARAHAT (A. Z.). — 1966. *Pedobiologia*, **6**, 258-268.
FARMER (V. C.) et MORRISON (R. I.). — 1964. *Geochim. cosmochim. Acta*, **28**, 1537-1546.
FAY (P.) et FOGG (G. E.). — 1962. *Arch. Mikrobiol.*, **42**, 310-321.
FEDOROV (M. V.) et KALININSKAYA (T. A.). — 1961. *Mikrobiologiya*, **30**, 7-11.
FEHL (A. J.) et LANGE (W.). — 1965. *Soil Sci.*, **100**, 368-374.
FELBECK (G. T., Jr.). — 1965. *Adv. Agron.*, **17**, 327-368.
FERGUSON (T. P.) et BOND (G.). — 1954. *Ann. Bot. N. S.*, **18**, 385-396.
FERRY (P.), BLACHÈRE (H.) et OBATON (M.). — 1959. *Ann. Agron.*, **2**, 219-233.
FIFE (J. M.). — 1943. *J. agr. Res.*, **66**, 421-440.
FINSTEIN (M. S.) et ALEXANDER (M.). — 1962. *Soil Sci.*, **94**, 334-339.
FITTS (J. W.), BARTHOLOMEW (W. V.) et HEIDEL (H.). — 1955. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **19**, 69-73.
FLAIG (W.). — 1964. *Geochim. cosmochim. Acta*, **28**, 1523-1535.
FLAIG (W.) et BREYHAN (T.). — 1956. *Z. Pflernähr. Düng. Bodenk.*, **75**, 132-135.
FLAIG (W.) et SCHMIDT (H. L.). — 1957. *Arch. Mikrobiol.*, **27**, 1-32.
FLAIG (W.), SCHOBINGER (U.) et DEUEL (H.). — 1959. *Chem. Ber.*, **92**, 1973-1982.
FRED (E. B.), BALDWIN (I. L.) et MCCOY (E.). — 1932. *Root Nodule Bacteria and Leguminous Plants*, Univ. Wisconsin, Madison.

- FREDERICK (L. R.). — 1956. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **20**, 496-500.
- FREDERICK (L. R.). — 1957. *Soil Sci.*, **83**, 481-485.
- FREDERICK (L. R.), STARKEY (R. L.) et SEGAL (W.). — 1957. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **21**, 287-292.
- FREMY (P.). — 1925. *Nuova Notarisia*, **36**, 297-304.
- FRENEY (J. R.) et SPENCER (K.). — 1960. *Aust. J. agric. Res.*, **11**, 339-345.
- FRENEY (J. R.) et STEVENSON (F. J.). — 1966. *Soil Sci.*, **101**, 307-316.
- FROMAGEOT (C.) et SENEZ (J. C.). — 1960. In *Comparative Biochemistry* (Florkin-Mason ed.), Academic Press, New York, 347-409.
- FUHS (G. W.). — 1961. *Arch. Mikrobiol.*, **39**, 374-422.
- FULLER (W. H.) et CLARK (K. G.). — 1947. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **12**, 198-202.
- GABE (D. R.). — 1961. *Soviet Soil Sci.*, **1**, 70-75.
- GADET (R.) et SOUBIES (L.). — 1963. *Congrès pomologique, Bordeaux*, 61-69.
- GADET (R.) et SOUBIES (L.). — 1965. *Mededelingen van de Landbouwhogeschool Gent*, **30**, 1241-1253.
- GALSTYAN (A. Sh.). — 1967. *Soviet Soil Sci.*, **5**, 656-663.
- GARBOSKY (A. H.) et GIAMBIAGI (N.). — 1963. *Annales Inst. Pasteur*, **105**, 202-208.
- GARDNER (I. C.) et BOND (G.). — 1966. *Naturwissenschaften*, **53**, 161.
- GARRETT (S. D.). — 1955. *Trans. Br. mycol. Soc.*, **38**, 1-9.
- GARRETT (S. D.). — 1956. *Biology of Root Infecting Fungi*, Cambridge Univ. Press.
- GARRETT (S. D.). — 1963. *Soil Fungi and Soil Fertility*, Pergamon Press, Oxford.
- GARRETT (S. D.). — 1965. In *Ecology of Soil-borne Plant Pathogens* (Baker, Snyder, ed.), Univ. California Press, 4-17.
- GASSER (J. K. R.). — 1964. *World Crops*, 25-32.
- GASSER (J. K. R.) et BLOOMFIELD (C.). — 1955. *J. Soil Sci.*, **6**, 219-232.
- GÉHU (J. M.) et GÉHU-FRANCK (J.). — 1961. *Annales Inst. Pasteur*, **100**, 545-548.
- GEL'TSER (F. Yu.). — 1962. *Vest. sel'-khoz. Nauki, Alma-Ata*, **5**, 134-141.
- GEL'TSER (F. Yu.). — 1965. In *Plant Microbe Relationships* (Macura, Vančura, ed.), Czechos. Acad. Sci., Prague, 291-295.
- GEL'TSER (J. G.). — 1963. *Pedobiologia*, **2**, 249-251.
- GEOGHEGAN (M. J.). — 1950. *Quatrième Congrès intern. Sci. Sol*, **1**, 198-201.
- GERARD (B. M.). — 1963. In *Soil Organisms* (Doeksen, Van der Drift, ed.), North-Holland, Amsterdam.
- GERE (G.). — 1963. In *Soil Organisms* (Doeksen, Van der Drift, ed.), North-Holland, Amsterdam, 225-259.
- GERRETSEN (F. C.). — 1949. *Pl. Soil*, **1**, 51-81.
- GHILAROV (M. S.). — 1955. *Pochvovedenie*, n° **10**, 61-65.
- GHILAROV (M. S.). — 1963. In *Soil Organisms* (Doeksen, Van der Drift, ed.), North-Holland, Amsterdam, 67-75.
- GIBBS (W. M.). — 1919. *Soil Sci.*, **8**, 427-481.
- GIBSON (A. H.). — 1964. *Aust. J. agric. Res.*, **15**, 37-49.
- GILEVA (E. A.), TIMOFEEVA (N. A.) et TIMOFEEV RESOVSKI (N. V.). — 1964. *Dokl. Akad. Nauk SSSR*, **156**, 455-456.
- GILLOT (J. C.) et DOMMERGUES (Y.). — 1967. *Revue Ecol. Biol. Sol*, **4**, 357-383.
- GLEEN (H.). — 1950. *Nature*, **166**, 871-872.
- GOLDBERG (S. S.) et GAINEY (P. L.). — 1955. *Soil Sci.*, **80**, 43-53.

- GOODCHILD (D. J.) et BERGERSEN (F. J.). — 1966. *J. Bact.*, **92**, 204-213.
- GORING (C. A. I.). — 1962. *Soil Sci.*, **93**, 211-218.
- GORING (C. A. I.). — 1967. *Ann. Rev. Phytopathol.*, **5**, 285-318.
- GORING (C. A. I.) et CLARK (F. L.). — 1949. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **13**, 261-266.
- GOTTLIEB (D.). — 1963. *Chem. Biochem. Fungi Yeasts*, Butterworths, London, 603-609.
- GOUERE (A.). — 1966. *Bull. Ass. fr. Etude Sol*, **72**, 367-387.
- GRABLE (A. R.). — 1966. *Adv. Agron.*, **18**, 57-106.
- GRAHAM (P. H.). — 1964. *J. gen. Microbiol.*, **35**, 511-517.
- GRASSÉ (P.-P.). — 1952-1953. *Traité de Zoologie*, **1**, Masson et C^{ie}, Paris.
- GRASSÉ (P.-P.) et NOIROT (C.). — 1958. *An. Sci. nat. Zool.*, **20**, 113-128.
- GRAY (R. G.). — 1967. *Science*, **155**, 1668-1670.
- GRAY (T. R. G.) et BELL (T. F.). — 1963. In *Soil Organisms* (Doeksen, Van der Drift, ed.), North-Holland, Amsterdam, 222-230.
- GRAY (T. R. G.) et BAXBY (P.). — 1968. *Trans. Br. mycol. Soc.*, **51**, 293-309.
- GRAY (T. R. G.), BAXBY (P.), HILL (I. R.) et coll. — 1968. In *The Ecology of Soil Bacteria* (Gray, Parkinson, ed.), Liverpool Univ. Press, 171-197.
- GRECHIN (I. P.). — 1963. *Soils Fertil.*, **27**, rés. n° 3438.
- GREENE (H.). — 1960. *Nature*, **186**, 511-513.
- GREENE (H.). — 1963. *J. Soil Sci.*, **14**, 1-11.
- GREENLAND (D. J.). — 1959. *Troisième Conf. interafr. Sols, Dalaba*, **1**, 531-535.
- GREENLAND (D. J.). — 1965. *Soils Fertil.*, **28**, 415-425 et **28**, 521-532.
- GREENLAND (D. J.) et NYE (P. H.). — 1959. *J. Soil Sci.*, **10**, 284-299.
- GREENLAND (D. J.), LINDSTRÖM (G. R.) et QUIRK (J. P.). — 1962. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **26**, 366-371.
- GREENWOOD (D. J.). — 1961. *Pl. Soil*, **14**, 360-376.
- GREENWOOD (D. J.). — 1962. *Pl. Soil*, **17**, 378-391.
- GREENWOOD (D. J.). — 1963. *Chem. Ind.*, London, **12**, 799-803.
- GREENWOOD (D. J.). — 1968. In *The Ecology of Soil Bacteria* (Gray, Parkinson, ed.), Liverpool Univ. Press, 138-157.
- GREENWOOD (D. J.) et GOODMAN (D.). — 1964. *J. Sci. Fd. Agric.*, **15**, 579-588.
- GREENWOOD (E. A. N.). — 1966. *Pl. Soil*, **24**, 279-288.
- GRIFFIN (D. M.). — 1963. *Biol. Rev.*, **38**, 141-166.
- GRIFFIN (D. M.). — 1966. *Trans. Br. mycol. Soc.*, **49**, 115-119.
- GRIFFITHS (D. A.). — 1966. *Pl. Soil*, **24**, 269-278.
- GRIFFITHS (E.) et JONES (D.). — 1963. *Trans. Br. mycol. Soc.*, **46**, 285-295.
- GRIFFITHS (E.) et JONES (D.). — 1965. *Pl. Soil*, **23**, 17-33.
- GROMYKO (E. P.) et BLOKHINA (T. P.). — 1964. *Soils Fertil.*, **28**, rés. n° 1731.
- GUENZI (W. D.) et BEARD (W. E.). — 1967. *Science*, **156**, 1116-1117.
- GUHA-SIRCAR (S. S.), DE (S. C.) et BHOWMICK (H. D.). — 1940. *Indian J. agric. Sci.*, **10**, 152-157.
- GUITTET (J.). — 1967. *Mat. u. Organismen*, **2**, 45-63.
- GULYAS (F.). — 1967. *Agrokem. Talajt.*, **16**, 137-150.
- GUNDERSSEN (K.). — 1955. *Pl. Soil*, **7**, 26-34.
- GUNNER (H. B.). — 1963. *Nature*, **197**, 1127-1128.
- GUNNER (H. B.) et ALEXANDER (M.). — 1964. *J. Bacteriol.*, **87**, 1309-1316.
- GUPTA (U. C.) et SOWDEN (F. J.). — 1963. *Soil Sci.*, **96**, 217-218.
- GUPTA (U. C.) et REUSZER (H. W.). — 1967. *Soil Sci.*, **104**, 395-400.

- GYURKO (P.), PANTOS (G.) et TAKATS (T.). — 1964. *Huitième Congrès int. Sci. Sol, Bucarest*, **3**, 845-853.
- HAIDER (K.) et SCHETTERS (C.). — 1967. *Progr. Soil Biol.*, Vieweg, Braunschweig, 425-439.
- HAIDER (K.), LIM (S.) et FLAIG (W.). — 1964. *Holzforschung*, **18**, 81-88.
- HAIDER (K.), FREDERICK (L. R.) et FLAIG (W.). — 1965. *Pl. Soil*, **22**, 49-64.
- HALKILAHTI (A. M.). — 1964. *Soils Fertil.*, **28**, rés. n° 1943.
- HALLECK (F. E.) et COCHRANE (V. W.). — 1950. *Phytopathology*, **40**, 715-718.
- HALLIWELL (G.). — 1963. *Adv. enzym. Hydrol. Cell. Rel. Mat.* (Reese, ed.), Pergamon, Oxford, 71-92.
- HALSTEAD (R. L.). — 1964. *Can. J. Soil Sci.*, **44**, 137-144.
- HAMATOVÁ (E.). — 1960. *Plant Production*, **33**, 71-90.
- HAMATOVÁ (E.). — 1965. In *Plant Microbe Relationships* (Macura, Vančura, ed.), Czechos. Acad. Sci., Prague, 256-263.
- HANDLEY (W. R. C.). — 1954. *For. Comm. Bull.*, **23**, 115 p.
- HANDLEY (W. R. C.). — 1961. *Pl. Soil*, **15**, 37-73.
- HANDLEY (W. R. C.). — 1963. *For. Comm. Bull.*, **36**, 70 p.
- HANDLEY (W. R. C.) et SANDERS (C. I.). — 1962. *Pl. Soil*, **16**, 42-61.
- HARDISSON (C.) et POCHON (J.). — 1966. *Annales Inst. Pasteur*, **111**, 66-75.
- HARLEY (J. L.). — 1959. *The Biology of Mycorrhiza*, Leonard Hill Books, London.
- HARLEY (J. L.). — 1965. In *Ecology of Soil-borne Plant Pathogens* (Baker, Snyder, ed.), Univ. California Press, 218-229.
- HARLEY (J. L.). — 1968. *Trans. Br. mycol. Soc.*, **51**, 1-11.
- HARLEY (J. L.) et WAID (J. S.). — 1955a. *Trans. Br. mycol. Soc.*, **38**, 104-118.
- HARLEY (J. L.) et WAID (J. S.). — 1955b. *Pl. Soil*, **1**, 96-112.
- HARMSSEN (G. W.) et VAN SCHREVEN (D. A.). — 1955. *Adv. Agron.*, **7**, 299-398.
- HARMSSEN (G. W.) et JAGER (G.). — 1963. In *Soils Organisms* (Doeksen, Van der Drift, ed.), North Holland, Amsterdam, 245-251.
- HARMSSEN (G. W.), QUISPÉL (A.) et OTZEN (D.). — 1954. *Pl. Soil*, **5**, 324-348.
- HARRIS (R. F.), ALLEN (O. N.), CHESTERS (G.) et coll. — 1963. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **27**, 542-545.
- HARRIS (R. F.), CHESTERS (G.) et ALLEN (O. N.). — 1966a. *Adv. Agron.*, **18**, 107-169.
- HARRIS (R. F.), CHESTERS (G.) et ALLEN (O. N.). — 1966b. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **30**, 205-210.
- HARRIS (R. F.), CHESTERS (G.), ALLEN (O. N.) et ATTOE (O. J.). — 1964. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **28**, 529-532.
- HART (M. G. R.). — 1959. *Pl. Soil*, **11**, 215-236.
- HART (M. G. R.). — 1963. *Pl. Soil*, **19**, 106-114.
- HATTORI (R.) et HATTORI (T.). — 1963. *Ecol. Rev., Sendai*, **16**, 63-70.
- HATTORI (T.) et FURUSAKA (C.). — 1961. *J. Biochem.*, **50**, 312-315.
- HAWKER (L. E.), LINTON (A. H.), FOLKES (B. F.) et CARLILE (M. J.). — 1960. *An Introduction to the Biology of Microorganisms*, Arnold, London.
- HEAL (O. W.). — 1963. In *Soil Organisms* (Doeksen, Van der Drift, ed.), North-Holland, Amsterdam, 289-297.
- HÉBERT (J.) et KOTTELANNE (E.). — 1965. *Annales Inst. Pasteur*, **109**, 167-183.
- HEINEN (W.) et DE VRIES (H.). — 1966. *Arch. Mikrobiol.*, **54**, 331-338.
- HEINONEN (R.). — 1958. In *Probleme der Krümelstabilitätsmessung und der Krümelbildung*, Deutsche Akademie der Landwirtschaftswissenschaften, Berlin, **13**, 279-285.

- HELLER (R.). — 1965. In *Travaux dédiés à Lucien Plantefol*, Masson et C^{ie}, Paris, **1**, 499-520.
- HELLRIEGEL (H.) et WILFARTH (H.). — 1888. Cités par NUTMAN (1965).
- HELY (F. W.), BERGERSEN (F. J.) et BROCKWELL (J.). — 1957. *Aust. J. agric. Res.*, **8**, 24-44.
- HENDERSON (M. E. K.). — 1955. *Nature*, **175**, 634.
- HENDERSON (M. E. K.). — 1963. *Chem. Biochem. Fungi Yeasts*, Butterworths, London, 589-602.
- HENDERSON (M. E. K.) et DUFF (R. B.). — 1963. *J. Soil Sci.*, **14**, 236-246.
- HÉNIN (S.). — 1944. *C. r. hebdomadaire Séances Acad. Agric. Fr.*, **30**, 373-375.
- HÉNIN (S.), MONNIER (G.) et TURC (L.). — 1959. *C. r. hebdomadaire Séances Acad. Sci. Paris*, **248**, 139-141.
- HÉNIN (S.), FEODOROFF (A.), GRAS (R.) et MONNIER (G.). — 1960. *Le profil cultural*, S.E.I.A., Paris.
- HÉNIN (Y.), KEYNAN (A.) et KELLER (P.). — 1961. *Bull. Res. Council. Israel*, **E**, **9**, 56-57.
- HENNEQUIN (J. R.) et BLACHÈRE (H.). — 1966. *Annales Inst. Pasteur*, **111**, 89-102.
- HENNEQUIN (J. R.) et JUSTE (C.). — 1967. *Annales Inst. nat. agron., Paris*, **18**, 545-569.
- HENRY (E.). — 1904. *Rev. Eaux et Forêts*, **43**, 33-49.
- HENZELL (E. F.) et NORRIS (D. D.). — 1962. In *A Review of Nitrogen in the Tropics*, Commonw. Bur., Harpenden, 1-18.
- HEPPLE (S.) et BURGESS (A.). — 1956. *Nature*, **177**, 486.
- HESSE (P. R.). — 1963. *Pl. Soil*, **19**, 205-218.
- HEUKELEKIAN (H.) et WAKSMAN (S. A.). — 1925. *J. biol. Chem.*, **66**, 323-342.
- HILGER (F.). — 1963a. *Thèse*, Gembloux.
- HILGER (F.). — 1963b. *Bull. Inst. agron. Stns. Rech., Gembloux*, **31**, 154-182.
- HILGER (F.). — 1965. *Annales Inst. Pasteur*, **109**, 406-423.
- HIRSCH (P.), OVERREIN (L.) et ALEXANDER (M.). — 1961. *J. Bact.*, **82**, 442-448.
- HODGE (J. E.). — 1953. *J. Agric. Fd. Chem.*, **1**, 928-943.
- HOFFMANN (F.). — 1961. *Wiss. Z. tech. Univ. Dresden*, **10**, 1467-1483.
- HOFFMANN (F.), KASTNER (C.) et FIEDLER (H. J.). — 1963. *Z. landw. Vers. u. UntersWes.*, **9**, 561-582.
- HOFFMANN (G.). — 1959. *Z. PflErnähr. Düng. Bodenk.*, **85**, 97-104.
- HOFFMANN (G.) et TEICHER (K.). — 1961. *Z. PflErnähr. Düng. Bodenk.*, **95**, 55-63.
- HOFFMANN (G.) et PALLAUF (J.). — 1965. *Z. PflErnähr. Düng. Bodenk.*, **110**, 193-201.
- HOFFMANN (E.). — 1962. In *Recent Progress in Microbiology*, University of Toronto Press, 216-220.
- HOFFMANN (E.). — 1963. In *Methods of Enzymatic Analysis* (Bergmeyer, ed.), Academic Press, New York, 720-723.
- HOFFMANN (E.) et SEEGERER (A.). — 1951. *Naturwissenschaften*, **38**, 141-142.
- HOFFMANN (E.) et SCHMIDT (W.). — 1953. *Biochem. Z.*, **324**, 125-127.
- HOLDING (A. J.). — 1960. *J. appl. Bact.*, **23**, 515-525.
- HOLDING (A. J.), FRANKLIN (D. A.) et WALTING (R.). — 1965. *J. Soil Sci.*, **16**, 44-59.
- HORIKOSHI (K.) et IIDA (S.). — 1958. *Nature*, **181**, 917-918.
- HORST (R. K.) et HERR (L. I.). — 1962. *Phytopathology*, **52**, 423-427.
- HURST (H. M.), BURGESS (A.) et LATTER (P.). — 1962. *Phytochemistry*, **1**, 227-231.
- HÜSER (R.). — 1963. *Z. PflErnähr. Düng. Bodenk.*, **103**, 220-226.
- HÜSER (R.). — 1965. *Pl. Soil*, **23**, 236-246.
- ILIALETDINOV (A. N.) et KANATCHINOVA (M. K.). — 1964. *Mikrobiologia*, **33**, 118-125.

- IMSHNETSKY (A. A.). — 1959. *Mikrobiologie der Cellulose.*, Akad. Verl., Berlin.
- IMSHENETSKY (A. A.). — 1968. In *The Ecology of Soil Bacteria* (Gray, Parkinson, ed.), Liverpool Univ. Press, 256-269.
- INGHAM (G.). — 1950. *J. agric. Sci. Camb.*, **40**, 55-61.
- INGRAHAM (J. L.). — 1962. In *The Bacteria* (Gunsalus, Stanier, ed.), Academic Press, New York, **4**, 265-296.
- INGRAHAM (J. L.) et STOKES (J. L.). — 1959. *Bact. Rev.*, **23**, 97-108.
- ISHIZAWA (S.) et MATSUGUCHI (T.). — 1962. *Soil Sci. Pl. Nutr.*, **8**, 245-252.
- ISHIZAWA (S.) et TOYODA (H.). — 1964. *Soil Sci. Pl. Nutr.*, **10**, 1-8, 9-20, 22-34, 35-43.
- ISHIZAWA (S.) et MATSUGUCHI (T.). — 1966. *Bull. nat. Inst. agric. Sci. Tokyo*, **17**, 1-90.
- ISWARAN (V.) et ABHISWAR SEN. — 1958. *Curr. Sci.*, **27**, 341-342.
- ISWARAN (V.), SUBBA-RAO (N. S.) et SUNDARA-RAO (W. V. B.). — 1965. *Curr. Sci.*, **35**, 126-127.
- JACKMAN (R. H.) et BLACK (C. A.). — 1952. *Soil Sci.*, **73**, 117-125.
- JACKSON (M. L.), MACKIE (W. Z.) et PENNINGTON (R. P.). — 1947. *Proc. Soil. Sci. Soc. Am.*, **11**, 57-63.
- JACKSON (N. E.), COREY (J. C.), FREDERICK (L. R.) et PICKEN (J. C., Jr.). — 1967. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **31**, 491-494.
- JACKSON (R. M.). — 1965a. *N. Z. J. Agric. Res.*, **8**, 878-888.
- JACKSON (R. M.). — 1965b. In *Ecology of Soil-borne Plant Pathogens* (Baker, Snyder, ed.), Univ. California Press, 363-373.
- JACKSON (R. M.) et BROWN (M. E.). — 1966. *Annales Inst. Pasteur*, **111**, 103-112.
- JACKSON (R. M.), BROWN (M. E.), BURLINGHAM (S. K.). — 1964. *Nature*, **203**, 851-852.
- JACQUIN (F.). — 1963a. *Bull. Ecole nat. sup. agron. Nancy*, **5**, 3-156.
- JACQUIN (F.). — 1963b. *Bull. Assoc. fr. Et. Sol*, 442-468 et 492-499.
- JACQUIN (F.) et BRUCKERT (S.). — 1965. *C. r. hebd. Séances Acad. Sci. Paris*, **260**, 4556-4559.
- JACQUIN (F.) et MANGENOT (F.). — 1959. *Pl. Soil*, **9**, 377-391.
- JACQUIN (F.) et MANGENOT (F.). — 1960. *Pl. Soil*, **12**, 276-284.
- JACQUIN (F.) et MANGENOT (F.). — 1966. *Trans. Meet. Comm. II and IV Int. Soc. Soil Sci., Aberdeen*, 53-58.
- JAIYEBO (E. O.) et MOORE (A. W.). — 1963. *Nature*, **197**, 317-318.
- JANOTA-BASSALIK (L.). — 1963. *Acta microbiol. pol.*, **12**, 25-40 et 41-53.
- JANSSON (S. L.). — 1958. *Ann. Roy. Agr. Coll.*, **24**, 101-361.
- JANSSON (S. L.). — 1963. *Soil Sci.*, **95**, 31-37.
- JASCHHOF (H.). — 1964. *Geochim. cosmochim. Acta*, **29**, 1623.
- JAYASANKAR (N. P.) et BHAT (J. V.). — 1966. *Can. J. Microbiol.*, **12**, 1031-1039.
- JEFFERY (J. W. D.). — 1961. *J. Soil Sci.*, **12**, 172-179.
- JENKINSON (D. S.). — 1963. *F.A.O./I.A.E.A. Technical Meeting Brunswick-Völkenrode*, 199-208.
- JENKINSON (D. S.). — 1966. *J. Soil Sci.*, **17**, 280-302.
- JENKINSON (D. S.). — 1968. *J. Soil Sci.*, **19**, 25-39.
- JENKINSON (D. S.) et TINSLEY (J.). — 1960. *Proc. R. Dublin Soc.*, **A, 1**, 141-147.
- JENNY (H.). — 1941. *Factors of Soil Formation*, McGraw-Hill, New York.
- JENNY (H.). — 1965. *Z. PflErnähr. Düng. Boden.*, **109**, 97-112.
- JENNY (H.) et GROSSENBACHER (K.). — 1963. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **27**, 273-277.
- JENSEN (H. L.). — 1931. *J. agric. Sci. Camb.*, **21**, 81-100.
- JENSEN (H. L.). — 1932. *J. agric. Sci. Camb.*, **22**, 1-25.
- JENSEN (H. L.). — 1941. *Proc. Linn. Soc. N. S. W.*, **66**, 239-249.

- JENSEN (H. L.). — 1951. *J. gen. Microbiol.*, **5**, 360-368.
- JENSEN (H. L.). — 1954. *Bact. Rev.*, **18**, 195-214.
- JENSEN (H. L.). — 1958. In *Nutrition of the Legumes* (Hallsworth, ed.), Butterworths, London, 75-86.
- JENSEN (H. L.). — 1963a. *Acta Agric. scand.*, **13**, 404-412.
- JENSEN (H. L.). — 1963b. *Annales Inst. Pasteur*, **105**, 232-236.
- JENSEN (H. L.). — 1965. In *Soil Nitrogen* (Bartholomew, Clark, ed.), Amer. Soc. of Agronomy, Madison, 436-480.
- JENSEN (H. L.) et KOUMARAN (K. A.). — 1965. *Annales Inst. Pasteur*, **109**, 184-190.
- JENSEN (H. L.), PETERSEN (E. J.), DE (P. K.) et BHATTACHARYA (R.). — 1960. *Arch. Mikrobiol.*, **36**, 183-195.
- JENSEN (V.). — 1956. *Physiologia Pl.*, **9**, 130-156.
- JENSEN (V.). — 1963a. *Zentbl. Bakt. ParasitKde*, **II**, **116**, 348-371.
- JENSEN (V.). — 1963b. *Zentbl. Bakt. ParasitKde*, **II**, **117**, 41-65.
- JENSEN (V.). — 1964. *Huitième Congrès intern. Sci. Sol, Bucarest*, **3**, 561-567.
- JOFFE (A. Z.). — 1966. *Soil Sci.*, **102**, 240-243.
- JOHNSON (D. D.) et GUENZI (W. D.). — 1963. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **27**, 663-666.
- JOHNSON (H. W.) et MEANS (U. M.). — 1963. *J. Agron.*, **55**, 269-271.
- JOHNSON (J. L.) et TEMPLE (K. L.). — 1964. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **28**, 207-209.
- JOHNSON (M. J.). — 1967. *Impact Sci. Soc. Unesco*, **17**, 295-309.
- JOHNSTON (H. H.). — 1964. *Pl. Soil*, **21**, 191-200.
- JOLIVET (M. E.) et HÉLIAS (M.). — 1953. *C. r. hebd. Séances Acad. Sci. Paris*, **236**, 1914-1916.
- JONES (D.) et GRIFFITHS (E.). — 1964. *Pl. Soil*, **20**, 232-240.
- JONES (D.) et WEBLEY (D. M.). — 1968. *Pl. Soil*, **28**, 147-157.
- JONES (J. H.) et TAYLOR (G. S.). — 1965. *Soil Sci.*, **99**, 301-309.
- JÖNSSON (A.) et FÄHRÆUS (G.). — 1960. *K. LantbrHögsK. Annlr.*, **26**, 323-332.
- JORDAN (D. C.). — 1952. *Can. J. Bot.*, **30**, 125-130.
- JORDAN (H. V.) et ENSMINGER (L. E.). — 1958. *Adv. Agron.*, **10**, 407-434.
- JURASEK (L.), COLVIN (J. R.) et WHITAKER (D. R.). — 1967. *Adv. appl. Microbiol.*, **9**, 131-170.
- JUSTICE (J. K.) et SMITH (R. L.). — 1962. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **26**, 246-250.
- KAISER (P.). — 1961. *Thèse Fac. Sci. Paris*.
- KAISER (P.). — 1966. *Rev. Ecol. Biol. Sol*, **3**, 409-472.
- KALININSKAYA (T. A.). — 1967. *Microbiologiya*, **36**, 621-625.
- KALPAGE (F. S.). — 1965. *Pl. Soil*, **23**, 129-136.
- KAMEN (M. D.) et GEST (H.). — 1949. *Science*, **109**, 560.
- KAMURA (T.), TAKAI (Y.) et ISHIKAWA (K.). — 1963. *Soil Sci. Pl. Nutr.*, **9**, 5-9.
- KANEVSKAJA (N. G.). — 1964. *Bot. Zh.*, **49**, 715-720.
- KANG (K. S.) et FELBECK (G. T., Jr.). 1965. *Soil Sci.*, **99**, 175-181.
- KARDOS (L. T.). — 1964. In *Chemistry of the Soil* (Bear, ed.), Reinhold, New York, 369-393.
- KASATOCHKIN (V. I.), KONONOVA (M. M.), LARINA (N. K.) et EGOROVA (O. I.). — 1964. *Fiz. Kim., Biol. Mineralog. Pochv. SSSR*, 195-205.
- KATZNELSON (H.). — 1960. *Septième Congrès intern. Sci. Sol, Madison*, **3**, 537-544.
- KATZNELSON (H.). — 1965. In *Ecology of Soil-borne Plant Pathogens* (Baker, Snyder, ed.), Univ. California Press, 187-209.
- KATZNELSON (H.) et ROUATT (J. W.). — 1957. *Can. J. Microbiol.*, **3**, 673-678.
- KATZNELSON (H.) et STRZELCZYK (E.). — 1961. *Can. J. Microbiol.*, **7**, 437-446.

- KATZNELSON (H.) et HENDERSON (V. E.). — 1962. *Can. J. Microbiol.*, **8**, 875-882.
- KATZNELSON (H.) et HENDERSON (V. E.). — 1964. *Can. J. Microbiol.*, **10**, 37-41.
- KATZNELSON (H.), ROUATT (J. W.) et PAYNE (T. M. B.). — 1955. *Pl. Soil*, **7**, 35-48.
- KATZNELSON (H.), ROUATT (J. W.) et PAYNE (T. M. B.). — 1956. *Sixième Congrès intern. Sci. Sol, Paris*, **C**, 151-156.
- KATZNELSON (H.), PETERSON (E. A.) et ROUATT (J. W.). — 1962. *Can. J. Bot.*, **40**, 1181-1186.
- KATZNELSON (H.), GILLESPIE (D. C.) et COOK (F. D.). — 1964. *Can. J. Microbiol.*, **10**, 699-704.
- KAUFFMANN (J.). — 1960. *Corrosion et anticorrosion*, **8**, 87-95.
- KEARNEY (P. C.), KAUFMAN (D. D.), ALEXANDER (M.). — 1967. In *Soil Biochemistry* (McLaren, Peterson, ed.), Marcel Dekker, New York, 318-342.
- KEE (N. S.) et BLOOMFIELD (C.). — 1961. *Geochim. cosmochim. Acta*, **24**, 206-225.
- KEEFER (R. F.) et MORTENSEN (J. L.). — 1963. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **27**, 156-160.
- KEILLING (J.), CAMUS (A.), SAVIGNAC (G.) et coll. — 1960. *C. r. hebd. Séances Acad. Agric. Fr.*, **46**, 647-652.
- KENDRICK (W. B.) et BURGESS (A.). — 1962. *Nova Hedwigia*, **4**, 313-342.
- KERLING (L. C. P.). — 1958. *Tijdschrift over Plantenziekten, Wageningen*, **64**, 402-410.
- KERLING (L. C. P.). — 1964. *Meded. LandbHoges. Opzoek-Sints Gent*, **29**, 885-895.
- KEVAN (D. K. M.). — 1955. *Soil Zoology*, Butterworths, London.
- KHAN (S. U.), MOORE (A. W.) et WEBSTER (G. R.). — 1968. *Pl. Soil*, **28**, 476-477.
- KHAO (Yu-S.) et CHEN (L. Ts.). — 1964. *Soils Fertil.*, **28**, rés. n° 1704.
- KHAU VAN KIEN (L.). — 1966. *Colloque F.A.O./A.I.E.A. sur l'emploi des radio-isotopes dans les études phytotrophiques et phytophysiologiques, Vienne*, rapport SM 77/10.
- KIDBY (D. K.) et GOODCHILD (D. J.). — 1966. *J. gen. Microbiol.*, **45**, 146-152.
- KIFFER (E.) et MANGENOT (F.). — 1968. *Annales Inst. Pasteur*, **115**, 582-595.
- KING (H. G. C.) et BLOOMFIELD (C.). — 1966. *J. Sci. Fd Agric.*, **17**, 39-43.
- KING (H. G. C.) et BLOOMFIELD (C.). — 1968. *J. Soil Sci.*, **19**, 67-76.
- KISS (S.). — 1957a. *Z. PflErnähr. Düng. Bodenk.*, **76**, 119-122.
- KISS (S.). — 1957b. *Agrokem. Talajt.*, **6**, 65-68.
- KISS (S.). — 1958. *Nature*, **182**, 203-204.
- KISS (S.). — 1961. *Naturwissenschaften*, **48**, 700.
- KISS (S.) et BALINT (I.). — 1959. *Izv. Akad. Nauk azerb. SSR Ser. biol.*, **2**, 215-220.
- KISS (S.) et PETERFI (S.). — 1961. *Studii Cerc. biol.*, **2**, 209-216.
- KISS (S.) et BOARU (M.). — 1965. *Symposium on Methods in Soil Biology, Bucarest*, 137-143.
- KISS (S.), BOARU (M.) et CONSTANTINESCU (L.). — 1965. *Symposium on Methods in Soil Biology, Bucarest*, 128-136.
- KLECZKOWSKA (J.). — 1965. *J. gen. Microbiol.*, **40**, 377-384.
- KLEIN (D. A.) et CASIDA (L. E.). — 1967. *Can. J. Microbiol.*, **13**, 1235-1241.
- KLEINHEMPPEL (D.). — 1967. *Albrecht-Thaer-Arch.*, **11**, 9-32.
- KLEIST (H.) et MÜCKE (D.). — 1966. *Experientia*, **22**, 136-137.
- KLUYVER (A. V.). — 1953. *Intern. Congr. Microbiol. Rome, Symposium on Microbiol. Metab.*, 71-91.
- KNÖSEL (D.). — 1959. *Z. PflErnähr. Düng. Bodenk.*, **85**, 58-66.
- KNOWLES (R.). — 1965. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **29**, 223.
- KOBAYASHI (M.), WILSON (P. W.), NICHOLAS (D. J. D.) et coll., 1963. *Soils Fertil.*, **28**, rés. n° 1732.
- KOBAYASHI (M.), KATAYAMA (T.) et OKUDA (A.). — 1965. *Soil Sci. Pl. Nutr.*, **11**, 1-5 et 28-31.

- KOBUS (J.). — 1962. *Acta microbiol. pol.*, **11**, 255-264.
- KOBUS (J.) et PACEWICZOWA (T.). — 1966. *Soils Fertil.*, **30**, rés. n° 3478.
- KOCH (B.) et EVANS (H. J.). — 1966. *Pl. Physiol. Lancaster*, **41**, 1748-1750.
- KOEPP (H.). — 1954. *Z. PflErnähr. Düng. Bodenk.*, **64**, 138-146.
- KÖNIG (E.). — 1965. *Z. PflErnähr. Düng. Bodenk.*, **111**, 23-37.
- KONONENKO (E. V.). — 1959. *Pochvovedenie*, n° 6, 63-70.
- KONONOVA (M. M.). — 1961. *Soil organic Matter, its Nature, its Role in Soil Formation and Soil Fertility* (traduction angl.), Pergamon Press, New York.
- KONONOVA (M. M.). — 1965. *Agrokhimiya*, n° 1, 3-11.
- KONONOVA (M. M.). — 1966. *TagBer. dtsh. Akad. LandwWiss., Berlin*, **82**, 307-315.
- KONONOVA (M. M.) et ALEXANDROVA (I. V.). — 1958. *Izv. sib. Otb. Akad. Nauk SSSR ser. biol.*, **1**, 79-88.
- KOUYEAS (V.). — 1964. *Pl. Soil*, **20**, 351-363.
- KOVDA (V. A.) et JAKUSHEVSKAJA (I. V.). — 1967. *Izv. sib. Otb. Akad. Nauk SSSR ser. biol.* 331-338.
- KOX (E.). — 1954. *Arch. Mikrobiol.*, **20**, 111-140.
- KOZLOV (K.). — 1964. *Folia microbiol.*, **9**, 145-149.
- KOZLOVSKAJA (L. S.) et ZHDANNIKOVA (E. N.). — 1961. *Dokl. Akad. Nauk SSSR*, **139**, 470-473.
- KOZLOVSKAJA (L. S.) et ZAGURALSKAJA (L. M.). — 1966. *Pedobiologia*, **6**, 244-257.
- KRASILNIKOV (N. A.). — 1958. *Soil Microorganisms and higher Plants* (trad. angl. 1961). Office of Technical services, US dept. of Commerce, Washington.
- KRASILNIKOV (N. A.). — 1965. *Annals Inst. Pasteur*, **109**, 191-206.
- KRASILNIKOV (N. A.). — 1968. In *The Ecology of Soil Bacteria* (Gray, Parkinson, ed.), Liverpool Univ. Press, 422-438.
- KREUTZER (W. A.). — 1963. *Ann. Rev. Phytopathol.*, **1**, 101-126.
- KREUTZER (W. A.). — 1965. In *Ecology of Soil-borne Plant Pathogens* (Baker, Snyder, ed.), Univ. California Press, 495-508.
- KROLL (L.) et KRAMER (M.). — 1955. *Naturwissenschaften*, **42**, 157-158.
- KRUGLOV (Yu. V.) et PAROMENSKAJA (L. N.). — 1966. *Soviet Soil Sci.*, n° 1, 84-86.
- KRYWOLAP (G. N.), GRAND (L. F.) et CASIDA (L. E., Jr.). — 1964. *Can. J. Microbiol.*, **10**, 323-328.
- KÜHNELT (W.). — 1958. In *Probleme der Krümelstabilitätsmessung und der Krümelbildung*, Deutsche Akademie der Landwirtschaftswissenschaften, Berlin, **13**, 193-199.
- KÜHNELT (W.). — 1963. In *Soil Organisms* (Doeksen, Van der Drift, ed.), North Holland, Amsterdam, 333-341.
- KUKHARKOV (A. M.). — 1956. *Soils Fertil.*, **22**, rés. n° 682.
- KULAI (G. A.). — 1962. *Soils Fertil.*, **26**, rés. n° 814.
- KUMADA (K.) et HURST (H. M.). — 1967. *Nature*, **214**, 631-633.
- KUNC (F.) et MACURA (J.). — 1966. *Folia microbiol.*, **11**, 248-256.
- KUNICKI-GOLDFINGER (W.), DROZANSKI (W.), BLASZCZAK (D.), MAZUR (J.) et SKIBINSKA (J.). — 1957. *Acta microbiol. pol.*, **6**, 331-344.
- KUO (M. H.) et BARTHOLOMEW (W. V.). — 1963. *F.A.O./I.A.E.A. Technical Meet. Brunswick-Völkenrode*, 329-335.
- KUO (M. H.) et ALEXANDER (M.). — 1967. *J. Bact.*, **94**, 624-629.
- KÜSTER (E.). — 1950. *Arch. Mikrobiol.*, **15**, 1-12.
- KÜSTER (E.). — 1952. *Z. PflErnähr. Düng. Bodenk.*, **57**, 51-57.

- KÜSTER (E.). — 1955. *Z. PflErnähr. Düng. Boden.*, **69**, 137-142.
- KÜSTER (E.). — 1958. *Zentbl. Bakt. ParasitKde*, II, **111**, 227-234.
- KUZNETSOV (S. I.), IVANOV (M. W.) et LYALIKOVA (N. N.). — 1962. *Introduction to Geological Microbiology* (traduction angl., 1963), McGraw-Hill, New York.
- LADD (J. N.) et BUTLER (J. H. A.). — 1966. *Aust. J. Soil Res.*, **4**, 51-54.
- LAHAV (N.). — 1962. *Pl. Soil*, **17**, 191-208.
- LAJUDIE (J.). — 1963. *Annales Inst. Pasteur*, **105**, 565-579 et 737-748.
- LANGE (N. A.). — 1956. *Handbook of Chemistry*, MacGraw-Hill, New York.
- LAPORTE (G. S.) et POURRIOT (R.). — 1967. *Revue Ecol. Biol. Sol*, **4**, 81-112.
- LAST (F. T.). — 1955. *Trans. Br. mycol. Soc.*, **38**, 221-239.
- LAST (F. T.) et DEIGHTON (F. C.). — 1965. *Trans. Br. mycol. Soc.*, **48**, 83-89.
- LAUDELOUT (H.), MEYER (A.) et PEETERS (A.). — 1960. *Agricultura, Louvain*, **8**, 103-140.
- LAVERGNE (D.). — 1957. *Bull. Serv. Carte phytogéographique*, **2**, 63-72.
- LEBEDJANTZEV (A. N.). — 1924. *Soil Sci.*, **18**, 419-447.
- LEBEN (C.). — 1961. *Phytopathology*, **51**, 553-557.
- LEBEN (C.). — 1965. *Ann. Rev. Phytopathol.*, **3**, 209-230.
- LEBEN (C.) et DAFT (G. C.). — 1964. *Can. J. Microbiol.*, **10**, 919-923.
- LEBEN (C.) et DAFT (G. C.). — 1966. *Can. J. Microbiol.*, **12**, 1119-1123.
- LE BORGNE (L.). — 1966. *Revue Ecol. Biol. Sol.*, **3**, 179-221.
- LEDINGHAM (G. A.) et ADAMS (G. A.). — 1942. *Can. J. Res., C*, **20**, 13-27.
- LEES (H.) et QUASTEL (J. H.). — 1946. *Biochem. J.*, **40**, 815-823.
- LEFÈVRE (G.), HIROUX (G.) et CAILLOUET (Y.). — 1965. *Annales agron.*, **16**, 203-221.
- LEFORT (M.). — 1959. *Les radiations nucléaires*, Presses Universitaires de France, Paris.
- LE GALL (J.), SENEZ (J. C.) et PICHINOTY (F.). — 1959. *Annales Inst. Pasteur*, **96**, 223-230.
- LEGG (J. O.) et ALLISON (F. E.). — 1960. *Septième Congrès int. Sci. Sol, Madison*, **2**, 545-550.
- LEMÉE (G.). — 1967a. *Oecol. Pl.*, **2**, 285-324.
- LEMÉE (G.). — 1967b. *Précis de Biogéographie*, Masson et C^{ie}, Paris.
- LEMÉE (G.), LOSSAINT (P.), METTAUER (H.) et WEISSBECKER (R.). — 1958. *Int. Symp. Pflanzensoziologie-Bodenkunde. Angew. Pflanzensoziol.*, **15**, 93-101.
- LEMOIGNE (M.), GIRARD (H.) et JACOBELLI (G.). — 1951. *Annales agron.*, **A**, 89-102.
- LENHARD (G.). — 1956. *Z. PflErnähr. Düng. Boden.*, **73**, 1-11.
- LEPOUTRE (B.). — 1963. *Ann. Rech. for. Maroc*, **6**, 211 p.
- LEVI (M. P.). — 1966. *Holz u. Organismen*, **1**, 119-126.
- LEVI (M. P.), MERRILL (W.) et COWLING (E. B.). — 1968. *Phytopathology*, **58**, 626-634.
- LEVISOHN (I.). — 1960. *New Phytol.*, **59**, 42-47.
- LEYTON (L.) et ROUSSEAU (L. Z.). — 1958. In *The Physiology of Forest Trees* (Thimann, ed.), Ronald Press, New York, 467-475.
- LIBOIS (A.). — 1968. *Annales agron.*, **19**, 103-128.
- LIE (T. A.). — 1964. *Thèse*, Wageningen.
- LIESE (J.). — 1931. Cité par CARTWRIGHT et FINDLAY, 1946.
- LILLY (D. M.) et STILLWELL (R. H.). — 1965. *Science*, **147**, 747-748.
- LINDBERG (G.). — 1946. *Ark. f. Bot.*, **33 A**, n° 10.
- LIPMAN (J. G.), McLEAN (H.) et LINT (H. C.). — 1916. *Soil Sci.*, **1**, 533-539.
- LIVENS (J.). — 1963. *Agricultura, Louvain*, **11**, 135-144.
- LLOYD (A. B.). — 1965. *Thèse*, Michigan State University.
- LOCHHEAD (A. G.) et CHASE (F. E.). — 1943. *Soil Sci.*, **55**, 185-195.

- LOCHHEAD (A. G.) et BURTON (M. O.). — 1957. *Can. J. Microbiol.*, **3**, 35-42.
- LOCKWOOD (J. L.). — 1964. *Ann. Rev. Phytopathol.*, **2**, 341-362.
- LOCKWOOD (J. L.). — 1968. In *The Ecology of Soil Bacteria* (Gray, Parkinson, ed.), Liverpool Univ. Press, 44-65.
- LOCKWOOD (J. L.) et LINGAPPA (B. T.). — 1963. *Phytopathology*, **53**, 917-920.
- LONERAGAN (J. F.). — 1959. *Aust. J. Biol.*, **12**, 26-39.
- LONERAGAN (J. F.). — 1960. *J. aust. Inst. agric. Sci.*, **26**, 26-31.
- LONERAGAN (J. F.) et DOWLING (E. J.). — 1958. *Aust. J. agric. Res.*, **9**, 464-472.
- LOSSAINT (P.). — 1959. *Annales agron.*, **10**, 493-542.
- LOSSAINT (P.). — 1961. *C. r. hebd. Séances Acad. Sci., Paris*, **253**, 2245-2247.
- LOSSAINT (P.). — 1966. *C. r. hebd. Séances Acad. Sci., Paris*, **262**, 1673-1676.
- LOSSAINT (P.) et RAPP (M.). — 1960. *C. r. hebd. Séances Acad. Sci., Paris*, **251**, 3034-3036.
- LOSSAINT (P.) et ROUBERT (R. M.). — 1964. *Annales Inst. Pasteur*, **107**, 178-187.
- LOUB (W.). — 1967. *An. Edafol. Agrobiol.*, **26**, 975-1008.
- LOUVET (L.) et BULIT (J.). — 1964. *Annales Epiphyt.*, **15**, 21-44.
- LOVEDAY (J.). — 1963. *Aust. J. Sci.*, **26**, 90-91.
- LOZANO-CALLE (J. M.), SANCLETO (M. J. DE) et CHALVIGNAC (M. A.). — 1968. *Revue Ecol. Biol. Sol*, **5**, 81-87.
- LUC (M.). — 1963. *C. r. hebd. Séances Acad. Sci., Paris*, **257**, 1794-1797.
- LUNDEGÅRDH (H.). — 1927. *Soil Sci.*, **23**, 417-430.
- LUNT (H. A.). — 1955. *Com. Agric. Exp. Sta. Bull.*, **593**, 46 p.
- L'VOV (N. P.) et LYUBIMOV (V. I.). — 1965. *Soils Fertil.*, **28**, rés. n° 3204.
- LYR (H.). — 1958. *Planta*, **50**, 359-370.
- MACHLIS (L.). — 1962. *Am. J. Bot.*, **49**, 171-177.
- MACIEJOWSKA (Z.). — 1962. *Soils Fertil.*, **27**, rés. n° 1113.
- MACIEJOWSKA (Z.) et WILLIAMS (E. B.). — 1963. *Can. J. Microbiol.*, **9**, 555-561.
- MACK (A. R.). — 1963. *Can. J. Soil Sci.*, **43**, 316-324.
- MACRAE (I. C.) et ALEXANDER (M.). — 1965. *J. agric. Fd Chem.*, **13**, 72-76.
- MACRAE (I. C.) et CASTRO (T. F.). — 1967. *Pl. Soil*, **26**, 317-323.
- MACURA (J.). — 1959. *Folia microbiol.*, **4**, 82-90.
- MACURA (J.). — 1965. In *Plant Microbes Relationships* (Macura, Vančura, ed.), Czechos. Acad. Sci., Prague, 26-33.
- MACURA (J.). — 1966. *Annales Inst. Pasteur*, **111**, 9-38.
- MACURA (J.). — 1968. In *The Ecology of Soil Bacteria* (Gray, Parkinson, ed.), Liverpool Univ. Press, 379-395.
- MACURA (J.) et PAVEL (L.). — 1959. *Folia microbiol.*, **4**, 82-90.
- MACURA (J.) et KUNC (F.). — 1965. *Folia microbiol.*, **10**, 125-135.
- MACURA (J.) et VANČURA (V.), ed. — 1965. *Plant Microbes Relationships*, Czechos. Acad. Sci., Prague.
- MACURA (J.), SZOLNOKI (J.) et VANČURA (V.). — 1962. In *Soil Organisms* (Doeksen, Van der Drift, ed.), North-Holland, Amsterdam, 231-238.
- MAHENDRAPPA (M. K.), SMITH (R. L.) et CHRISTIANSEN (A. T.). — 1966. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **30**, 60-62.
- MAHEUT (J.) et DOMMERGUES (Y.). — 1959. *Bois et Forêts des Tropiques*, **63**, 3-16.
- MAIGNIEN (R.). — 1958. *Bull. Serv. Carte géol. Als. Lorr.*, **16**, 1-239.
- MAKSIMOVA (I. V.) et FEDENKO (E. P.). — 1965. *Mikrobiologiya*, **34**, 344-349.

- MALDAGUE (M. E.). — 1964. *Huitième Congrès intern. Sci. Sol, Bucarest*, **3**, 743-752.
- MALDAGUE (M. E.). — 1967. *Thèse*, Univ. Louvain.
- MALDAGUE (M. E.) et HILGER (F.). — 1963. In *Soil Organisms* (Doeksen, Van der Drift, ed.), North Holland, Amsterdam, 368-374.
- MALEK (I.) et RÍCICA (J.). — 1968. *Folia microbiol.*, **13**, 46-96.
- MALISZEWSKA (W.). — 1961. *Roczn. Nauk roln.*, **91-D**, 103-235.
- MANDAL (L. N.). — 1961. *Soil Sci.*, **91**, 121-126.
- MANGENOT (F.). — 1952. *Revue gén. Bot.*, **59**, 381-399, 477-519 et 544-555.
- MANGENOT (F.). — 1966a. *Mater. u. Organismen*, **1**, 333-342.
- MANGENOT (F.). — 1966b. *Annales Inst. Pasteur*, **111**, 329-341.
- MANGENOT (F.). — 1966c. *Bull. Ec. nat. supér. Agron. Nancy*, **8**, 113-125.
- MANGENOT (F.) et JACQUIN (F.). — 1960. *Pl. Soil*, **13**, 291-296.
- MANGENOT (F.) et REYMOND (J.). — 1963. *Revue gén. Bot.*, **70**, 107-129.
- MANGENOT (G.). — 1934. *C. r. Séances Soc. Biol.*, **117**, 843-847.
- MANIL (P.). — 1963. *Annales Inst. Pasteur*, **105**, 19-45.
- MANKAU (R.). — 1962. *Nematologica*, **7**, 65-73.
- MANKAU (R.) et MANKAU (S. K.). — 1963. In *Soil Organisms* (Doeksen, Van der Drift, ed.), North-Holland, Amsterdam, 271-280.
- MANN (P. J. G.) et QUASTEL (J. H.). — 1946. *Nature*, **158**, 154-158.
- MARKOSYAN (L. V.) et GALSTYAN (A. Sh.). — 1963. *Soils Fertil.*, **27**, rés. n° 283.
- MARSHALL (K. C.). — 1964. *Aust. J. agric. Res.*, **15**, 273-281.
- MARSHALL (K. C.). — 1968. *Neuvième Congrès intern. Sci. Sol, Adélaïde*, **3**, 275-280.
- MARSHALL (K. C.) et ALEXANDER (M.). — 1960. *Pl. Soil*, **12**, 143-153.
- MARSHALL (K. C.) et ALEXANDER (M.). — 1962. *J. Bact.*, **83**, 572-578.
- MARSHALL (K. C.) et ROBERTS (F. J.). — 1963. *Nature*, **198**, 410-411.
- MARSHALL (T. J.). — 1959. *Relations between Water and Soil*, Techn. Commun., **50**, Commonw. Bur. Harpenden.
- MARSZEWSKA-ZIEMIECKA (J.) et MALISZEWSKA (W.). — 1963. *Pam. Puławski*, **11**, 35-48.
- MARTIN (J. P.). — 1945. *Soil Sci.*, **59**, 163-174.
- MARTIN (J. P.). — 1946. *Soil Sci.*, **61**, 157-166.
- MARTIN (J. P.) et WAKSMAN (S. A.). — 1940. *Soil Sci.*, **50**, 29-47.
- MARTIN (J. P.), BAINES (R. C.) et PAGE (A. L.). — 1963. *Soil Sci.*, **95**, 175-185.
- MARTIN (J. P.), ERVIN (J. O.) et SHEPHERD (R. A.). — 1965. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **29**, 397-400.
- MARTIN (J. P.), ERVIN (J. O.) et SHEPHERD (R. A.). — 1966. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **30**, 196-200.
- MARTIN (N.) et GOTTLIEB (D.). — 1952. *Phytopathology*, **42**, 294-296.
- MARX (D. H.) et DAVEY (C. B.). — 1967. *Nature*, **213**, 1139.
- MASSOUMI (A.) et CORNFIELD (A. H.). — 1965. *J. Sci. Fd Agric.*, **16**, 565-568.
- MATERASSI (R.) et BALLONI (W.). — 1965. *Annales Inst. Pasteur*, **109**, 218-223.
- MATHUR (S. P.) et PAUL (E. A.). — 1966. *Nature*, **212**, 646-647.
- MATHUR (S. P.) et PAUL (E. A.). — 1967. *Can. J. Microbiol.*, **13**, 573-580 et 581-586.
- MAYAUDON (J.). — 1966. *FAO/IAEA Technical meeting Brunswick-Völkenrode*, 259-269.
- MAYAUDON (J.). — 1968. *Annales Inst. Pasteur*, **115**, 710-730.
- MAYAUDON (J.) et SIMONART (P.). — 1959. *Pl. Soil*, **11**, 181-192.
- MAYAUDON (J.) et SIMONART (P.). — 1963. *Annales Inst. Pasteur*, **105**, 257-266.
- MAYAUDON (J.) et SIMONART (P.). — 1964. *Annales Inst. Pasteur*, **107**, 188-196.

- MAYLAND (H. F.), McINTOSH (T. H.) et FULLER (W. H.). — 1966. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **30**, 56-60.
- McCALLA (T. M.), GUENZI (W. D.) et NORSTADT (F. A.). — 1963. *Z. allg. Mikrobiol.*, **3**, 202-210.
- McCONNELL (J. T.) et BOND (G.). — 1957. *Pl. Soil*, **8**, 378-388.
- McGARITY (J. W.). — 1961. *Pl. Soil*, **14**, 1-21.
- McGARITY (J. W.). — 1962. *Nature*, **196**, 1342-1343.
- McLAREN (A. D.). — 1954a. *J. Phys. Chem.*, **58**, 129-137.
- McLAREN (A. D.). — 1954b. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **18**, 170-174.
- McLAREN (A. D.). — 1963. *Science*, **141**, 1141-1147.
- McLAREN (A. D.) et PETERSON (G. H.). — 1967. In *Soil Biochemistry* (McLaren, Peterson, ed.), Marcel Dekker, New York, 1-15.
- McLAREN (A. D.), RESHETKO (L.) et HUBER (W.). — 1957. *Soil Sci.*, **83**, 497-502.
- McLAREN (A. D.), LUSE (R. A.) et SKUJINS (J. J.). — 1962. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **26**, 371-377.
- MEEK (B. D.) et MacKENZIE (A. J.). — 1965. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **29**, 176-178.
- MEHTA (N. C.), STREULI (H.), MÜLLER (M.) et DEUEL (H.). — 1960. *J. Sci. Fd Agric.*, **1**, 40-47.
- MEIKLEJOHN (J.). — 1932. *Ann. appl. Biol.*, **19**, 584-608.
- MEIKLEJOHN (J.). — 1962. *Emp. J. exp. Agric.*, **30**, 115-126.
- MEIKLEJOHN (J.). — 1965. *Rhod. J. agric. Res.*, **3**, 67-79.
- MEKHTIEVA (N. A.). — 1967. *Dokl. Akad. Nauk azerb. SSR*, **23**, 57-60.
- MELIN (E.). — 1946. *Symb. bot. Upsaliens.*, **8**.
- MENKINA (E.) et RAMA DAS (V. S.). — 1954. *Physiologia Pl.*, **7**, 851-858.
- MENKINA (R. A.). — 1963. *Mikrobiologiya*, **33**, 352-358.
- MENZIES (J. D.) et GILBERT (R. G.). — 1967. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **31**, 495-496.
- METCALFE (G.) et CHAYEN (G.). — 1954. *Nature*, **174**, 841-842.
- METCALFE (G.) et BROWN (M. E.). — 1957. *J. gen. Microbiol.*, **17**, 567-572.
- MEYER (J. A.). — 1959. *Troisième Conf. interafr. Sols, Dalaba*, **1**, 517-524.
- MEYER (J. A.). — 1963. *Publ. Inst. nat. Etude agron. Congo, sér. scient.*, **101**, 1-137.
- MICKELSON (J. C.), DAVIS (E. B.) et TISCHER (R. G.). — 1967. *J. exp. Bot.*, **18**, 397-405.
- MIKOLA (P.). — 1956. *Commun. Inst. for. Fenn.*, **48**.
- MIKOLA (P.). — 1965. *Acta forest. fenn.*, **79**.
- MILLER (C. O.). — 1967. *Science*, **157**, 1055-1057.
- MILLER (R. E.). — 1964. *Thèse*, Univ. Göttingen.
- MILLER (R. H.) et SCHMIDT (E. L.). — 1963. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **27**, 374-377.
- MIRSYUREVA (N. G.) et RAUTENSHEIN (Ya. I.). — 1964. *Mikrobiologiya*, **33**, 56-63.
- MISHUSTIN (E. N.). — 1964. *Annales Inst. Pasteur*, **107**, 64-77.
- MISHUSTIN (E. N.). — 1966. *Annales Inst. Pasteur*, **111**, 121-135.
- MISHUSTIN (E. N.) et NIKITIN (D. I.). — 1961. *Mikrobiologiya*, **30**, 841-848.
- MISHUSTIN (E. N.), NAUMOVA (A. N.). — 1962. *Mikrobiologiya*, **31**, 543-555.
- MISHUSTIN (E. N.), PUSHKINSKAYA (O. N.) et TEPLIAKOVA (E. F.). — 1961. *Trudy Inst. Pochv. Alma-Ata*, **12**, 1-64.
- MISHUSTIN (E. N.), EZOFFEV (N. S.), NIKITIN (D. I.) et coll. — 1964. *Annales Inst. Pasteur*, **107**, 211-222.
- MITCHELL (R.). — 1963. *Phytopathology*, **53**, 1068-1071.
- MITCHELL (R.) et ALEXANDER (M.). — 1961. *Pl. Dis. Repr.*, **45**, 487-490.

- MITCHELL (R.) et ALEXANDER (M.). — 1962. *Soil Sci.*, 413-419.
- MITCHELL (R.) et ALEXANDER (M.). — 1963. *Can. J. Microbiol.*, **9**, 169-177.
- MITCHELL (R. B.), HOOTON (D. R.) et CLARK (F. E.). — 1941. *J. agric. Res.*, **63**, 535-547.
- MITROFANOVA (N. S.). — 1966. *Izv. Akad. Nauk kazakh. SSR. Ser. biol.*, **4**, 9-15.
- MOLINA (J. A. E.) et ROVIRA (A. D.). — 1964. *Can. J. Microbiol.*, **10**, 249-257.
- MOLLARET (H. H.). — 1965. *Bull. Soc. Pathologie exotique*, **58**, 140-154.
- MOLLIARD (M.). — 1922. *C. r. hebd. Séances Acad. Sci. Paris*, **174**, 881-883.
- MONNIER (G.). — 1965. *Annales Agron.*, **16**, 327-400 et 471-534.
- MONNIER (G.) et TURC (L.). — 1964. *Huitième Congrès intern. Sci. Sol, Bucarest*, **2**, 129-135.
- MONSOUR (V.), WYSS (O.) et KELLOGG (D. J.). — 1955. *J. Bact.*, **70**, 486-487.
- MOORE (A. W.). — 1963. *Emp. J. exp. Agric.*, **30**, 239-248.
- MOORE (A. W.). — 1966. *Soils Fertil.*, **29**, 113-128.
- MOREAU (C.) et MOREAU (M.). — 1956. *Bull. Soc. mycol. France*, **72**, 250-253.
- MOREAU (R.). — 1959. *Annales Sci. Univers. Besançon*, **3**, 69-78.
- MOREAU (R.) et SCHAEFFER (R.). — 1959. *Annales Sci. Univers. Besançon*, **3**, 112-120.
- MORTENSEN (J. L.). — 1963. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **27**, 179-186.
- MORTENSEN (J. L.) et HIMES (F. L.). — 1964. In *Chemistry of the Soil* (Bear, ed.), Reinhold, New York, 206-241.
- MORTENSON (L. E.). — 1964. *Proc. nat. Acad. Sci. USA*, **52**, 272-279.
- MOSER (M.). — 1959. *Forstw. CentBl.*, **78**, 193-202.
- MOSER (U. S.) et OLSON (R. V.). — 1953. *Soil Sci.*, **76**, 251-257.
- MOSSE (B.). — 1962. *J. gen. Microbiol.*, **27**, 509-520.
- MOTOMURA (S.). — 1961. *Soil Sci. Pl. Nutr.*, **7**, 54-60.
- MOTOMURA (S.). — 1962. *Soil Sci. Pl. Nutr.*, **8**, 9-17.
- MOTOMURA (S.). — 1966. *Soils Fertil.*, **30**, rés. n° 2749.
- MOULINIER (M. H.). — 1965. *C. r. hebd. Séances Acad. Agric., Paris*, **51**, 149-158.
- MOUNTAIN (W. B.). — 1965. In *Ecology of Soil-borne Plant Pathogens* (Baker, Snyder, ed.), University of California Press, 285-301.
- MOURARET (M.). — 1965. *Contribution à l'étude de l'activité des enzymes du sol ; l'asparaginase*, ORSTOM, Paris.
- MOUREAUX (C.). — 1959. *M. inst. Sci. Madagascar*, **9**, 121-199.
- MOUREAUX (C.). — 1967. *Cah. Pédol. ORSTOM*, **5**, 393-420.
- MOYSE (A.). — 1967. *Atomes*, **243**, 300-306.
- MUIR (J. W.), MORRISON (R. I.), BOWN (C. J.) et LOGAN (J.). — 1964. *J. Soil Sci.*, **15**, 220-237.
- MULDER (E. G.) et ANTHEUNISSE. — 1963. *Annales Inst. Pasteur*, **105**, 46-74.
- MÜLLER (D.) et NIELSEN (J.). — 1965. *Det forstlige Forsøgsvaesen i Danmark*, **29**, 69-160.
- MÜLLER (E. P.). — 1963. *Ber. schweiz. bot. Ges.*, **73**, 347-380.
- MÜLLER (G.). — 1958. In *Probleme der Krümelstabilitätsmessung und der Krümelbildung*, Deutsche Akademie der Landwirtschaftswissenschaften, Berlin, **13**, 167-192.
- MÜLLER (G.) et KLEINHEMPEL (D.). — 1966. *Zentbl. Bakt. ParasitKde*, **II**, **120**, 576-586.
- MÜLLER (H. R. A.) et FRÉMONT (T.). — 1935. *Annales agron.*, **5**, 1-13.
- MÜLLER (W. F.) et SCHOPFER (W. H.). — 1937. *C. r. hebd. Séances Acad. Sci., Paris*, **205**, 687-689.
- MUNNS (D. N.). — 1968. *Pl. Soil*, **28**, 129-146.
- MUNRO (P. E.). — 1966. *J. appl. Ecol.*, **3**, 227-229 et 231-238.
- MUTATKAR (V. K.) et PRITCHETT (W. L.). — 1966. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **30**, 343-346.
- MYŚKÓW (W.). — 1961. *Acta microbiol. pol.*, **10**, 395-402.

- MYŚKÓW (W.). — 1965. *Pam. Puławski*, **19**, 345-368.
- MYŚKÓW (W.). — 1967. *Bull. Acad. pol. Sci. Cl. II*, **15**, 79-84.
- MYŚKÓW (W.) et MORRISON (R. I.). — 1964. *J. Sci. Fd Agric.*, **15**, 162-168.
- NAGEL DE BOOIS (H. M.) et JANSEN (E.). — 1967. In *Progress in Soil Biology* (Graff, Satchell, ed.), Vieweg, Braunschweig, 27-36.
- NAPLEKOVA (N. N.). — 1964. *Trudy biol. Inst. sib. Otd. Akad. Nauk SSSR*, **12**, 101-107.
- NAPLEKOVA (N. N.). — 1966. *Izv. sib. otd. Akad. Nauk SSSR, sér. biol.*, 43-47.
- NAPLEKOVA (N. N.). — 1967. *Soviet Soil Sci.*, 1495-1503.
- NASH (R. G.) et WOOLSON (E. A.). — 1967. *Science*, **157**, 926.
- NEAL (J. L.), BOLLEN (W. B.) et ZAK (B.). — 1964. *Can. J. Microbiol.*, **10**, 259-265.
- NEMETH (G.). — 1959. *Nature*, **183**, 1460-1461.
- NEPOMILUEV (V. F.), GRECHIN (I. P.) et KUZYAKINA (T. I.). — 1966. *Izv. timiryazev. sel'khoz. Akad.*, 128-136.
- NESTORESCU (E.). — 1962. *Ann. Univ. Bucuresti, sér. biol.*, **33**, 179-183.
- NICHOLAS (D. J. D.). — 1965. In *Ecology of Soil-borne Plant Pathogens* (Baker, Snyder, ed.), Univ. California Press, 210-217.
- NICHOLAS (D. P.) et PARKINSON (D.). — 1967. *Pedobiologia*, **7**, 23-41.
- NICOLSON (T. H.). — 1960. *Trans. Br. mycol. Soc.*, **43**, 132-145.
- NICOT (J.). — 1955. *C. r. hebd. Séances Acad. Sci. Paris*, **240**, 2082-2084.
- NIELSEN (C. O.). — 1962. *Oikos*, **13**, 200-215.
- NIKITIN (D. I.). — 1961. *Trudy Inst. Mikrobiol. Akad. Nauk latv. SSSR*, **11**, 41-47.
- NIKITIN (D. I.). — 1965. In *Plant Microbes Relationships* (Macura, Vančura, ed.), Czechos. Acad. Sci., Prague, 316-320.
- NIKOLYUK (V. F.). — 1963. *Pedobiologia*, **3**, 259-273.
- NIKOLYUK (V. F.) et MAVLYANOVA (M. I.). — 1963. *Soils Fertil.*, **12**, rés. n° 3572.
- NISHIGAKI (S.) et SHIORI (M.). — 1959. *Soil Pl. Fd*, **5**, 36-39.
- NOGUCHI (I.). — 1963. *Bot. Mag. Tokyo*, **76**, 191-198.
- NOMMIK (H.). — 1956. *Acta agric. Scand.*, **6**, 195-228.
- NOMMIK (H.). — 1957. *Acta agric. Scand.*, **7**, 395-436.
- NOMMIK (H.). — 1958. *Acta agric. Scand.*, **8**, 404-440.
- NOMMIK (H.). — 1962. *Acta agric. Scand.*, **12**, 81-94.
- NOMMIK (H.). — 1965. In *Soil Nitrogen* (Bartholomew, Clark, ed.), Amer. Soc. Agron., Madison, 198-258.
- NORKRANS (B.). — 1967. *Adv. appl. Microbiol.*, **9**, 91-130.
- NORMAN (A. G.). — 1960. *Septième Congrès intern. Sci. Sol, Madison*, 531-536.
- NORRIS (D. O.). — 1956. *Emp. J. exp. Agric.*, **24**, 247-270.
- NORRIS (D. O.). — 1958. In *Nutrition of the Legumes* (Hallsworth, ed.), Butterworths, London, 164-182.
- NORRIS (D. O.). — 1962. In *A Review of Nitrogen in the Tropics*, Commonw. Bur., Harpenden, 113-129.
- NORRIS (D. O.). — 1965. *Pl. Soil*, **22**, 143-166.
- NORRIS (D. O.). — 1967. *Rhizobium Newsletter*, **12**, 23-24.
- NORRIS (J. R.). — 1959. *Lab. Pract.*, **8**, 239-243.
- NORRIS (J. R.) et JENSEN (H. L.). — 1958. *Arch. Microbiol.*, **31**, 198-205.
- NOSEK (J.) et AMBROZ (Z.). — 1964. *Pedobiologia*, **1**, 222-240.
- NOVAK (B.). — 1966. *Tagber. dt. Akad. LandwWiss. Berl.*, **82**, 335-339.

- NOVIKOVA (N. S.). — 1955. *Mikrobiologia*, **24**, 705-709.
- NOWAKOWSKI (T. Z.). — 1968. *Pl. Soil*, **28**, 165-168.
- NURMIKKO (V.). — 1956. *Experientia*, **12**, 245-284.
- NUTMAN (P. S.). — 1957. *Ann. Bot. London*, **21**, 321-338.
- NUTMAN (P. S.). — 1963. *Symp. Soc. gen. Microbiol.* (Nutman, Mosse, ed.), Cambridge Univ. Press, 51-71.
- NUTMAN (P. S.). — 1965. In *Soil Nitrogen* (Bartholomew, Clark, ed.), Amer. Soc. Agron., Madison, 360-383.
- NYE (P. A.). — 1961. *Pl. Soil*, **13**, 333-346.
- OBATON (M.). — 1967. *Bull. tech. Informat. Ingrs Serv. agric.*, **219**, 1-9.
- OBATON (M.) et BLACHÈRE (H.). — 1965. *Annales agron.*, **16**, 25-51.
- ODUM (E. P.). — 1959. *Fundamentals of Ecology*, Saunders, Philadelphia.
- OGATA (T.) et YOSHINAUCHI (K.). — 1958. *J. Sci. Soil Manure, Tokyo*, **29**, 51-56.
- OGATA (G.) et BOWER (C. A.). — 1965. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **29**, 23-25.
- OGLESBY (R. T.), CHRISTMAN (R. F.) et DRIVER (C. F.). — 1967. *Adv. appl. Microbiol.*, **13**, 131-170.
- OHARA (H.) et HAMADA (M.). — 1967. *Nature*, **213**, 528-529.
- OKAFOR (N.). — 1966. *J. gen. Microbiol.*, **44**, 311-327.
- OKAFOR (N.). — 1967. In *Progress in Soil Biology* (Graff, Satchell, ed.), Vieweg, Braunschweig, 440-454.
- OKUDA (A.) et YAMAGUCHI (M.). — 1955. *Soil Pl. Food*, **1**, 102-104.
- OKUDA (A.) et YAMAGUCHI (M.). — 1956. *Soil Pl. Food*, **2**, 4-7 et 131-133.
- OKUDA (A.), YAMAGUCHI (M.) et KOBAYASHI (M.). — 1961. *Soil Sci. Pl. Nutr.*, **7**, 115-118 et 146-151.
- OLSEN (C. M.) et BAKER (K. F.). — 1968. *Phytopathology*, **58**, 79-87.
- OLSON (J. S.). — 1958. *Bot. Gaz.*, **119**, 125-170.
- OLSON (J. S.). — 1963. *Ecology*, **44**, 322-332.
- OLSON (J. S.), CROSSLEY (D. A., Jr.), CATE (W. C.) et coll. — 1961. *Oak Ridge National Laboratory Report*, **3189**, 105-128.
- ORCHARD (E. R.) et DARBY (G. D.). — 1956. *Sixième Congrès int. Sci. Sol, Paris*, **D**, 305-310.
- OTTO (G.). — 1962. *Zentbl. Bakt. ParasitKde*, II, **115**, 525-544.
- PACEWICZOWA (T.). — 1960. *Roczn. Nauk roln.*, **82**, 211-218.
- PACEWICZOWA (T.). — 1962. *Roczn. Nauk roln.*, **85**, 175-182.
- PADAN (E.), SHILO (M.) et KISLEV (N.). — 1967. *Virology*, **32**, 234-246.
- PANTOS (G.), GYURKO (P.) et TAKACS (T.). — 1964. *Soils Fertil.*, **28**, rés. n° 1708.
- PAPAVIZAS (G. C.) et DAVEY (C. B.). — 1962. *Phytopathology*, **52**, 759-766.
- PARK (D.). — 1956. *Trans. Br. mycol. Soc.*, **39**, 239-259.
- PARK (D.). — 1963. *Ann. Rev. Phytopathol.*, **1**, 241-258.
- PARKER (B. C.). — 1961. *Ecology*, **42**, 381-386.
- PARKER (B. C.) et BOLD (H. C.). — 1961. *Am. J. Bot.*, **48**, 185-197.
- PARKER (C. A.). — 1954a. *Nature*, **173**, 780-781.
- PARKER (C. A.). — 1954b. *Aust. J. agric. Res.*, **5**, 90-97.
- PARKER (C. A.). — 1957. *J. Soil Sci.*, **8**, 48-59.
- PARKINSON (D.). — 1965. In *Plant Microbes Relationships* (Macura, Vančura, ed.), Czechos. Acad. Sci., Prague, 69-75.

- PARKINSON (D.). — 1967. In *Soil Biology* (Burges, Raw, ed.), Academic Press, London, 449-478.
- PARKINSON (D.), TAYLOR (G. S.) et PEARSON (R.). — 1963. *Pl. Soil*, **19**, 332-349.
- PARLE (J. N.). — 1963. *J. gen. Microbiol.*, **31**, 1-11, 13-22.
- PARR (J. F.), PARKINSON (D.) et NORMAN (A. G.). — 1966. *Soil Sci.*, **103**, 303-310.
- PATE (J. S.). — 1961. *Nature*, **192**, 637-639.
- PATE (J. S.). — 1962. *Phyton*, **18**, 65-74.
- PATE (J. S.) et WALLACE (W.). — 1964. *Ann. Bot. Lond.*, **28**, 83-99.
- PATHAK (A. N.) et JAIN (S. L.). — 1965. *Soils Fertil.*, **29**, rés. n° 2530.
- PATNAIK (S.). — 1965. *Soils Fertil.*, **28**, rés. n° 2192.
- PATRICK (H.). — 1960. *Seventh Intern. Congr. Soil Sci., Madison*, **2**, 494-500.
- PATRICK (W. H.) et WYATT (R.). — 1964. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **28**, 647-653.
- PATRICK (Z. A.), TOUSSOUN (T. A.) et SNYDER (W. C.). — 1963. *Phytopathology*, **53**, 152-161.
- PAUL (E. A.) et NEWTON (J. D.). — 1961. *Can. J. Microbiol.*, **7**, 7-13.
- PAUL (E. A.) et SCHMIDT (E. L.). — 1961. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **25**, 359-362.
- PAUL (E. A.) et TU (C. M.). — 1965. *Pl. Soil*, **22**, 207-219.
- PAUL (E. A.) et MATHUR (S. P.). — 1967. *Pl. Soil*, **27**, 297-299.
- PAULI (F. W.). — 1965. *Pl. Soil*, **22**, 337-351.
- PAULI (F. W.). — 1967. *Soil Fertility, a Biodynamical Approach*, Hilger, London.
- PAULI (F. W.). — 1968. *Pl. Soil*, **28**, 375-389.
- PAYEN (J.). — 1962. *Bull. Ec. nat. supér. agron. Nancy*, **4**, 52-70.
- PEARSON (R. W.), NORMAN (A. G.) et HO (C.). — 1941. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **6**, 168-175.
- PECHMANN (H. VON). — 1966. *Holz u. Organismen*, **1**, 237-250.
- PERIGAUD (S.). — 1963. *Bull. Ass. fr. Etude sol*, **1**, 1-58.
- PERMINOVA (G. N.). — 1964. *Mikrobiologiya*, **33**, 472-476.
- PETERSEN (E. J.) et HOLM (E.). — 1964. *Yb. R. Vet. Agric. Coll.*, 209-226.
- PETERSON (C. A.) et COWLING (E. B.). — 1964. *Phytopathology*, **54**, 542-547.
- PETERSON (E. A.), ROUATT (J. W.) et KATZNELSON (H.). — 1964. *Can. J. Microbiol.*, **11**, 483-489.
- PETERSON (G. H.). — 1962a. *Soil Sci.*, **94**, 71-74.
- PETERSON (G. H.). — 1962b. *Can. J. Microbiol.*, **8**, 519-524.
- PICHINOTY (F.). — 1963. *Enzymologia*, **26**, 176-180.
- PICHINOTY (F.). — 1965. *Annales Inst. Pasteur*, **109**, 248-254.
- PIGNAUD (G.), MILKOWSKA (A.), CHALVIGNAC (M. A.) et coll. — 1966. *Annales Inst. Pasteur*, **111**, 76-83.
- PINCK (L. A.) et ALLISON (F. E.). — 1944. *Soil Sci.*, **57**, 155-161.
- PINCK (L. A.), ALLISON (F. E.) et SHERMAN (M. S.). — 1950. *Soil Sci.*, **69**, 391-401.
- PINCK (L. A.), DYAL (R. S.) et ALLISON (F. E.). — 1954. *Soil Sci.*, **78**, 109-118.
- PINCK (L. A.), HOLTON (W. F.) et ALLISON (F. E.). — 1961a. *Soil Sci.*, **91**, 22-28 et 90-93.
- PINCK (L. A.), SOULIDES (D. A.) et ALLISON (F. E.). — 1961b. *Soil Sci.*, **91**, 94-99.
- PISEMSKAYA (V. A.). — 1963. *Soils Fertil.*, **26**, rés. n° 3047.
- PIZELLE (G.). — 1966. *Annales Inst. Pasteur*, **111**, 259-264.
- PLOTHO (O. VON). — 1950. *Z. PflErnähr. Düng. Boden.*, **51**, 212-224.
- PLOTHO (O. VON). — 1951. *Z. PflErnähr. Düng. Boden.*, **55**, 151-169.
- POCHON (J.). — 1963. *Microbiologia esp.*, **16**, 117-122.
- POCHON (J.). — 1964. *Microflore Sol et Végétation*, A 300, Palais de la Découverte, Paris.
- POCHON (J.) éd. — 1966. *Annales Inst. Pasteur*, **111**, Suppl. n° 3.

- POCHON (J.) et BARJAC (H. DE). — 1958. *Traité de Microbiologie des sols*, Dunod, Paris.
- POCHON (J.) et TARDIEUX (P.). — 1962. *Techniques d'analyse en Microbiologie du sol*, Editions de la Tourelle, Saint-Mandé.
- POCHON (J.) et CHALVIGNAC (M. A.). — 1964. 5^e *Simposio Intern. di Agrochim. su « Lo zolfo in agricoltura »*, Palermo, 373-380.
- POCHON (J.), TARDIEUX (P.), LAJUDIE (J.) et CHARPENTIER (M.). — 1960. *Annales Inst. Pasteur*, **98**, 457-461.
- PONCHET (J.). — 1965. *Thèse*, Fac. Sci. Paris.
- POPENOE (H.) et ENO (C. F.). — 1962. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **26**, 164-167.
- POSTGATE (J. R.). — 1965. *Bact. Rev.*, **29**, 425-441.
- POWELSON (R. L.) et PATIL (S. S.). — 1963. *Phytopathology*, **53**, 1141.
- PRAMER (D.). — 1964. *Science*, **144**, 382-388.
- PRAMER (D.). — 1968. In *The Ecology of Soil Bacteria* (Gray, Parkinson, ed.), Liverpool Univ. Press, 220-223.
- PRAT (S.) et RYPAČEK (V.), ed. — 1962. *Studies about humus*, Czechos. Acad. Sci., Prague.
- PRÉVOT (A. R.). — 1961. *Traité de Systématique bactérienne*, Paris, Dunod.
- PROCH (J.). — 1961. *Wiss. Z. Hochsch. landw. Prod. Genoss.*, Meissen, **4**, 87-96.
- PUGH (G. Y. F.) et DICKINSON (C. H.). — 1963. In *Plant Microbes Relationships* (Macura, Vančura, ed.), Czechos. Acad. Sci., Prague, 76-83.
- PURCHASE (H. F.). — 1958. *J. Aust. Inst. Agric. Sci.*, **24**, 35-38.
- QUASTEL (J. H.), HEWITT (E. J.) et NICHOLAS (D. J. D.). — 1948. *J. Agric. Sci.*, **38**, 315-322.
- QUASTEL (J. H.), SCHOLEFIELD (P. G.) et STEVENSON (P. G.). — 1950. *Nature*, **166**, 940-942.
- RAGGIO (M.), RAGGIO (N.) et TORREY (J. G.). — 1965. *Pl. Physiol.*, **40**, 601-606.
- RAGHU (K.) et MACRAE (I. C.). — 1966. *Science*, **154**, 263-264.
- RAGHU (K.) et MACRAE (I. C.). — 1967. *Can. J. Microbiol.*, **13**, 173-180.
- RAKHNO (P. G.). — 1963. *Vest. Akad. Nauk kazakh. SSR*, **10**, 54-57.
- RAKHNO (P. Kh.) et RYYS (O. O.). — 1963. *Mikrobiologiya*, **32**, 558-561.
- RAKHTEENKO (I. N.). — 1958. *Fiziologiya Rast.*, **5**, 447-450.
- RAMACHANDRA-REDDY (T. K.). — 1959. *Phytopathology*, **36**, 286-289.
- RANGASWAMI (G.) et SUBBARAJA (K. T.). — 1962. *Proc. Indian Acad. Sci.*, **56**, 174-183.
- RANKOV (V.). — 1964. *Agrochimica*, **8**, 330-342.
- RAW (F.). — 1961. *Soils Fertil.*, **24**, 1-2.
- RAYNAUD (M.), DASTE (Ph.), GROSSIN (F.) et coll. — 1968. *Annales Inst. Pasteur*, **115**, 731-744.
- REBER (H.). — 1967. *Z. PflKrankh. PflPath. PflSchutz*, **74**, 414-426 et 427-438.
- RECORD (B. R.), TAYLOR (R.) et MILLER (D. S.). — 1962. *J. gen. Microbiol.*, **28**, 585-598.
- REDDY (G. R.). — 1964. *Can. J. Soil Sci.*, **44**, 254-259.
- REDEMANN (C. T.), MEIKLE (R. W.) et WIDOFISKY (J. G.). — 1964. *J. Agric. Fd Chem.*, **12**, 207-209.
- REESE (E. T.) et MANDELS (M.). — 1963. In *Adv. in enzym. Hydrol. Cell. Rel. Mat.*, Pergamon, New York, 197-234.
- REMACLE (J.). — 1963. *Lejeunia*, **19**, 1-47.
- RENNIE (D. A.), TRUOG (E.) et ALLEN (O. N.). — 1954. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **18**, 399-403.
- REUSS (J. O.) et SMITH (R. L.). — 1965. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **29**, 267-270.
- RICE (E. L.). — 1967. *Bios*, **38**, 67-74.
- RICHARDSON (H. L.). — 1938. *J. agric. Sci.*, **28**, 73-121.

- RISHBETH (J.). — 1952. *Forestry*, **25**, 41-50.
- RISHBETH (J.). — 1963. *Ann. appl. Biol.*, **52**, 63-77.
- RIVIÈRE (J.). — 1959. *Thèse*, Paris.
- RIVIÈRE (J.). — 1960. *Annales agron.*, **11**, 398-440.
- RIVIÈRE (J.). — 1961. *Annales Inst. Pasteur*, **101**, 611-618.
- RIVIÈRE (J.). — 1964. *Annales Inst. nat. agron., Paris*, **1**, 74-107.
- RIVIÈRE (J.) et ROUX (R.). — 1961. *Annales agron.*, **12**, 399-424.
- RIVIÈRE (J.) et CHAUSSAT (R.). — 1966. *Annales Inst. Pasteur*, **111**, 155-167.
- ROBERGE (M. R.) et KNOWLES (R.). — 1967. *Naturaliste can.*, **94**, 221-227.
- ROBERT (M.). — 1964. *Annales Inst. Pasteur*, **106**, 319-325 et 801-806.
- ROBERT-GERO (M.), VIDAL (G.), HARDISSON (C.) et coll. — 1967. *Annales Inst. Pasteur*, **113**, 911-921.
- ROBINSON (J. B. D.). — 1957. *J. agric. Sci.*, **49**, 100-105.
- ROBINSON (J. B. D.). — 1967. *Soil Sci.*, **18**, 109-117.
- ROGERS (R. W.), LANGE (R. T.) et NICHOLAS (D. J. D.). — 1966. *Nature*, **209**, 96-97.
- ROJZIN (M. B.). — 1960. *Bot. Zh.*, **45**, 997-1008.
- RÖSCH (R.). — 1961. *Arch. Mikrobiol.*, **38**, 73-106.
- RÖSCH (R.). — 1966. *Holz u. Organismen*, **1**, 173-186.
- ROSLYCKY (E. B.), ALLEN (O. N.) et MACCOY (E.). — 1963. *Can. J. Microbiol.*, **9**, 709-717.
- ROSS (D. J.). — 1965. *J. Soil Sci.*, **16**, 86-94.
- ROSSI (S.). — 1964. *Annales Inst. Pasteur*, **106**, 505-510.
- ROUATT (J. W.) et KATZNELSON (H.). — 1961. *J. appl. Bact.*, **24**, 164-171.
- ROUATT (J. W.), LECHEVALIER (M.) et WAKSMAN (S. A.). — 1951. *Antibiot. Chemotherapy*, **1**, 185-192.
- ROUATT (J. W.), PETERSON (E. A.) et KATZNELSON (H.). — 1963. *Can. J. Microbiol.*, **9**, 227-238.
- ROUQUEROL (T.). — 1962. *Annales agron.*, **13**, 325-346.
- ROUQUEROL (T.). — 1964. *Annales Inst. Pasteur*, **109**, 293-300.
- ROVIRA (A. D.). — 1959. *Pl. Soil*, **11**, 53-64.
- ROVIRA (A. D.). — 1961. *Aust. J. agric. Res.*, **12**, 77-83.
- ROVIRA (A. D.). — 1963. *Pl. Soil*, **19**, 304-314.
- ROVIRA (A. D.). — 1965a. In *Ecology of Soil-borne Plant Pathogens* (Baker, Snyder, ed.), Univ. California Press, 170-186.
- ROVIRA (A. D.). — 1965b. *Ann. Rev. Microbiol.*, **19**, 241-266.
- ROVIRA (A. D.) et GREACEN (E. L.). — 1957. *Aust. J. agric. Res.*, **8**, 659-673.
- ROVIRA (A. D.) et BOWEN (G. D.). — 1966. *Pl. Soil*, **25**, 129-142.
- ROY (A. B.) et SUBIR SEN. — 1962. *Nature*, **194**, 604-605.
- RUBENCHIK (L. I.). — 1960. *Azotobacter and its Use in Agriculture* (trad. angl., 1963), Oldbourne, London.
- RUINEN (J.). — 1956. *Nature*, **177**, 220-221.
- RUINEN (J.). — 1961. *Pl. Soil*, **15**, 81-100.
- RUINEN (J.). — 1965. *Pl. Soil*, **22**, 375-394.
- RUINEN (J.) et DEINEMA (M. H.). — 1964. *Antonie van Leeuwenhoek*, **30**, 377-384.
- RUNOV (Ye. V.) et YEGOROVA (S. V.). — 1963. *Soviet Soil Sci.*, **12**, 1171-1177.
- RUSCHEL (A. P.) et DÖBEREINER (J.). — 1965. *Ninth Inter. Grassland Congress, São Paulo*, **13**, 1103-1107.
- RUSSELL (E. W.). — 1961. *Soil Conditions and Plant Growth*, Longmans, London.
- RUSSELL (E. W.). — 1966. *FAO/IAEA Technical meeting Brunswick-Völkenrode*, 3-19.

- SABEY (B. R.), FREDERICK (L. R.) et BARTHOLOMEW (W. V.). — 1959. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **23**, 462-465.
- SADASIVAN (T. S.). — 1965. In *Ecology of Soil-borne Plant Pathogens* (Baker, Snyder, ed.), Univ. of California Press, 460-470.
- SAITÔ (T.). — 1955. *Sci. Rep. Tôhoku Univ.*, sér. 4, Biol., **21**, 145-151.
- SAITÔ (T.). — 1956. *Ecol. Rev.*, **14**, 141-147.
- SAITÔ (T.). — 1958. *Sci. rep. Tôhoku Univ.*, sér. 4, Biol., **29**, 133-138.
- SAITÔ (T.). — 1966. *Ecol. Rev.*, Sendai, **16**, 245-254.
- SAITÔ (T.), TAKANASHI (K.), IWATA (Y.) et coll. — 1964. *Soils Fertil.*, **28**, rés. n° 1955.
- SAKAI (H.). — 1959. *Soil Pl. Fd.*, 159-162.
- SALETTE (J. E.). — 1966. *C. r. hebd. Séances Acad. Agric.*, **52**, 449-459.
- SALONIUS (P. O.), ROBINSON (J. B.) et CHASE (F. E.). — 1967. *Pl. Soil*, **27**, 239-248.
- SAMTSEVICH (S. A.). — 1955. *Mikrobiologiya*, **24**, 615-625.
- SAMTSEVICH (S. A.). — 1962. *Mikrobiologiya*, **31**, 923-933.
- SAMTSEVICH (S. A.). — 1965. In *Plant Microbes Relationships* (Macura, Vančura, ed.), Czechos. Acad. Sci., Prague, 48-53.
- SASSON (A.). — 1967. *Thèse*, Fac. Sci. Paris.
- SATCHELL (S. E.). — 1967. In *Soil Biology* (Burgess, Raw, ed.), Academic Press, London, 259-322.
- SAUERBECK (D.). — 1966. FAO/IAEA Technical meeting Brunswick-Völkenrode, 209-221.
- SAUNDER (D. H.) et GRANT (P. M.). — 1962. *International Soil Confer., New Zealand*, A **6**, 3-7.
- SAVANT (N. K.) et ELLIS (R.). — 1964. *Soil Sci.*, **98**, 388-394.
- SCHAEDE (R.). — 1940. *Planta*, **31**, 1-21.
- SCHAEDE (R.). — 1962. *Die Pflanzlichen Symbiosen*, 3^e éd. revue par Meyer (F. H.), Stuttgart.
- SCHAEFER (R.). — 1961. *C. r. hebd. Séances Acad. Sci. Paris*, **252**, 2591-2593.
- SCHAEFER (R.). — 1962. *Bull. Ass. fr. Etude Sol*, **1**, 1-17.
- SCHAEFER (R.). — 1963a. *Annales Inst. Pasteur*, **105**, 326-331.
- SCHAEFER (R.). — 1963b. *C. r. hebd. Séances Acad. Agric. Fr.*, **49**, 578-581.
- SCHAEFER (R.). — 1964a. *Annales Inst. Pasteur*, **107**, 282-292 et 534-549.
- SCHAEFER (R.). — 1964b. *Conf. Inst. Pasteur* (non publiée).
- SCHAEFER (R.). — 1966a. *Thèse*, Fac. Sci. Paris.
- SCHAEFER (R.). — 1966b. *Annales Inst. Pasteur*, **111**, 168-177.
- SCHATZ (A.). — 1963. *Agric. Fd Chem.*, **11**, 112-118.
- SCHATZ (A.), SCHATZ (V.), SCHALSCHA (E. B.) et coll. — 1964. *Compost Sci.*, Winter, 25-28.
- SCHAEFFER (F.) et ZIECHMANN (W.). — 1967. *Z. PflErnähr. Düng. Boden.*, **116**, 106-115.
- SCHAEFFER (F.), KICKUTH (R.) et STRICKER (G.). — 1964. *Z. PflErnähr. Düng. Boden.*, **105**, 13-22.
- SCHIPPERS (B.), SCHROTH (M. N.) et HILDEBRAND (D. C.). — 1967. *Pl. Soil*, **27**, 81-91.
- SCHLOESING (T.) et MUNTZ (A.). — 1877. *C. r. hebd. Séances Acad. Sci. Paris*, **84**, 301-303.
- SCHMIDT (E. L.). — 1960. *Septième Congrès intern. Sci. Sol, Madison*, **2**, 600-607.
- SCHNITZER (M.) et SKINNER (S. I. M.). — 1965. *Soil Sci.*, **99**, 278-284.
- SCHOBINGER (U.). — 1958. *Thèse*, n° 2728, E.T.H., Zürich.
- SCHOLANDER (P. F.), DAM (L. VAN) et SCHOLANDER (S. I.). — 1955. *Am. J. Bot.*, **42**, 92-98.
- SCHÖLLHORN (R.) et BURRIS (H. R.). — 1966. *Fed. Proc.*, **25**, 710.
- SCHÖNBECK (F.). — 1958. *Naturwissenschaften*, **45**, 63-64.
- SCHÖNWÄLDER (H.). — 1958. *Arch. Mikrobiol.*, **30**, 162-180.
- SCHROTH (M. N.) et HENDRIX (F. F.). — 1962. *Phytopathology*, **52**, 906-909.

- SCHUBERT (W. J.). — 1965. *Lignin Biochemistry*, Academic Press, New York.
- SCHUFFELEN (A. C.) et MIDDELBURG (H. A.). — 1954. *Cinquième Congrès intern. Sci. Sol, Léopoldville*, 2, 158-165.
- SEGALEN (P.). — 1964. *Le fer dans les sols*, ORSTOM, Paris.
- SEIFERT (J.). — 1960. *Folia microbiol.*, 5, 176-180.
- SEIFERT (J.). — 1963a. *Acta Univ. Carol., Biol.*, 265-270.
- SEIFERT (J.). — 1963b. *Acta Univ. Carol., Biol.*, 271-273.
- SEIFERT (J.). — 1964. *Folia microbiol.*, 9, 115-120 et 347-351.
- SEIFERT (J.). — 1965. *Acta Univ. Carol., Biol.*, 3, 245-272.
- SEIFERT (K.). — 1966. *Holz u. Organ*, 1, 103-117.
- SELBY (K.). — 1963. In *Adv. in enzym. Hydrol. Cell Rel. Mat.*, Pergamon Press, Oxford, 33-50.
- SELBY (K.) et MAITLAND (C.). — 1967. *Arch. Biochem. Biophys.*, 118, 254-257.
- SEN (B. C.). — 1961. *J. Indian chem. Soc.*, 38, 737-740.
- SENEZ (J. C.). — 1951. *Annales Inst. Pasteur*, 80, 395-408.
- SENEZ (J. C.). — 1962. *Pubbl. Staz. Zool. Napoli*, 32, 427-441.
- SENEZ (J. C.). — 1967. In *Traité de Biochimie générale*. Masson et C^{ie}, Paris, 3, 116-141.
- SENEZ (J. C.). — 1968. *Microbiologie générale*, Doin, Paris.
- SENEZ (J. C.), PICHINOTY (F.) et GEOFFRAY (C.). — 1956. *Gaz de France, Direction des Etudes et Techniques nouvelles*, Paris, public. n° M 102.
- SENING (E.). — 1963. *Zentbl. Bakt. ParasitKde*, II, 117, 13-40.
- SEWELL (G. W. F.). — 1965. In *Ecology of Soil-borne Plant Pathogens* (Baker, Snyder, ed.), Univ. California Press, 479-494.
- SHATTUCK (G. E., Jr.) et ALEXANDER (M.). — 1963. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, 27, 600-601.
- SHAW (W. M.) et ROBINSON (B.). — 1960. *Soil Sci.*, 90, 320-323.
- SHIELDS (L. M.) et DROUET (F.). — 1962. *Am. J. Bot.*, 49, 547-554.
- SHIELDS (L. M.) et DURRELL (L. W.). — 1964. *Bot. Rev.*, 30, 92-128.
- SHIGO (A.). — 1966. *Mater. u. Organismen*, 1, 309-324.
- SHINDALA (A.), BUNGAY III (H. R.), KRIEG (N. R.) et coll., 1965. *J. Bact.*, 89, 693-696.
- SHTINA (E. A.). — 1957. *Pochvovedenie*, n° 3, 12-18.
- SHTINA (E. A.). — 1959. *Bot. Zh.*, 44, 1062-1074.
- SHTINA (E. A.). — 1961. *Trudy Inst. Mikrobiol. Akad. Nauk latv. SSR*, 11, 130-138.
- SHTINA (E. A.) et BOLYSHEV (N. N.). — 1963. *Bot. Zh.*, 48, 670-680.
- SHTINA (E. A.), BAJRAMOVA (L. A.), PERMINOVA (G. N.) et coll. — 1964. *Huitième Congrès intern. Sci. Sol, Bucarest*, 3, 953-958.
- SILVER (W. S.), BENDANA (F. E.) et POWELL (R. D.). — 1966. *Physiologia Pl.*, 19, 207-218.
- SIMONART (P.) et MAYAUDON (J.). — 1961. *Pédologie. Symp. intern. 2, Appl. sci. nucl. ped., Gand*, 91-103.
- SIMONART (P.) et MAYAUDON (J.). — 1963. *FAO/IAEA Techn. Meet. Brunswick Völkenrode*, 245-258.
- SIMONART (P.), WIAUX (A.) et VERACHTERT (H.). — 1959. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 41, 541-544.
- SIMONART (P.), BATISTIC (L.) et MAYAUDON (J.). — 1967. *Pl. Soil*, 27, 153-161.
- SIMON-SYLVESTRE (G.). — 1960. *Annales agron.*, 11, 311-332.
- SIMON-SYLVESTRE (G.). — 1965. *C. r. hebd. Séances Acad. Agric. Fr.*, 51, 426-431.
- SIMON-SYLVESTRE (G.). — 1967. *Annales agron.*, 18, 243-266.
- SIMPSON (J. R.). — 1960. *J. Soil Sci.*, 11, 45-60.
- SIMPSON (J. R.). — 1965. *Aust. J. agric. Res.*, 16, 916-926.

- SINGH (B. N.). — 1948. *J. gen. Microbiol.*, **2**, 17-18.
- SINGH (B. N.). — 1963. *Proc. 1st Summer School of Zool. Simla*, 79-103.
- SIRONVAL (C.) et BONNIER (Ch.). — 1967. In *Traité de Biochimie générale*, Masson et C^{ie}. Paris, **3**, 341-353.
- SIU (R. G. H.). — 1951. *Microbial Decomposition of Cellulose*, Reinhold, New York.
- SKERMAN (V. B. D.) et BROMFIELD (S. M.). — 1949. *Nature*, **163**, 575.
- SKERMAN (V. B. D.) et MACRAE (I. C.). — 1957. *Can. J. Microbiol.*, **3**, 215-230 et 505-530.
- SKINNER (F. A.). — 1956. *J. gen. Microbiol.*, **14**, 393-405.
- SKINNER (F. A.). — 1968. In *The Ecology of Soil Bacteria* (Gray, Parkinson, ed.), Liverpool Univ. Press, 573-592.
- SKOU (J. P.). — 1962. *J. gen. Microbiol.*, **28**, 521-530.
- SKRDLETA (V.). — 1965. *Pl. Soil*, **23**, 43-48.
- SKUJINS (J. J.). — 1967. In *Soil Biochemistry* (McLaren, Peterson, ed.), Marcel Dekker, New York, 371-416.
- SKUJINS (J. J.), ESTERMANN (E. F.) et McLAREN (A. D.). — 1959. *Can. J. Microbiol.*, **5**, 631-639.
- SKUJINS (J. J.), BRAAL (L.) et McLAREN (A. D.). — 1962. *Enzymologia*, **25**, 125-133.
- SKUJINS (J. J.), POTGIETER (H. J.) et ALEXANDER (M.). — 1965. *Arch. Biochem. Biophys.*, **111**, 358-364.
- SKYRING (G. W.). — 1962. *International Soil Conf., New Zealand*, 138-188.
- SLANKIS (V.). — 1967. *14^e IUFRÖ Kongress München*, **24**, 84-89.
- SMIRNOV (V. N.), GRISHKUN (Ye. V.) et USYNINA (V. A.). — 1962. *Soviet Soil Sci.*, **1**, 49-62.
- SMIT (J.) et WIERINGA (K. T.). — 1953. *Nature*, **171**, 794-795.
- SMITH (J. H.) et BURNS (G. R.). — 1965. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **29**, 179-181.
- SMYK (B.) et DRZAL (M.). — 1964. *Geographia pol.*, **2**, 57-60.
- SØRENSEN (H.). — 1957. *Acta agric. Scand.*, **1**, 1-86.
- SØRENSEN (H.). — 1962. *J. gen. Microbiol.*, **27**, 21-34.
- SØRENSEN (H.). — 1965. *Nature*, **208**, 97-98.
- SOROKINA (T. A.). — 1965. In *Plant Microbes Relationships* (Macura, Vančura, ed.), Czechos. Acad. Sci., Prague, 42-47.
- SOUBIES (L.) et GADET (R.). — 1957. *Fruits*, **12**, 83-97.
- SOUBIES (L.), GADET (R.) et LENAIN (M.). — 1962. *C. r. hebd. Séances Acad. Agric. Fr.*, **48**, 798-803.
- SOULIDES (D. A.). — 1964. *Soil Sci.*, **97**, 286-289.
- SOULIDES (D. A.) et CLARK (F. E.). — 1958. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **22**, 308-311.
- SOULIDES (D. A.) et ALLISON (F. E.). — 1961. *Soil Sci.*, **91**, 291-298.
- SOWDEN (K. C.) et IVARSON (F. J.). — 1959. *Pl. Soil*, **11**, 237-248.
- SPANIS (W. C.), MUNNECKE (D. E.) et SOLBERG (R. A.). — 1962. *Phytopathology*, **52**, 455-462.
- SPENCER (W. F.), PATRICK (R.) et FORD (H. W.). — 1963. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **27**, 134-137.
- SPERBER (J. I.). — 1958a. *Aust. J. agric. Res.*, **9**, 778-781.
- SPERBER (J. I.). — 1958b. *Nature*, **181**, 934.
- SPRINGER (U.). — 1950. *Landw. Forsch.*, **2**, 50-56.
- SPRINGER (U.) et LEHNER (A.). — 1952. *Z. PflErnähr. Düng. Bodenk.*, **59**, 1-27.
- SPRINGER (U.) et WAGNER (A.). — 1959. *Z. PflErnähr. Düng. Bodenk.*, **86**, 223-249.
- SPRINGER (U.) et NETZSCH-LEHNER (A.). — 1966. *Bayer. landw. Jb.*, **3**, 299-315.
- SSSA Committee on Terminology. — 1965. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **29**, 330-351.
- STANIER (R. Y.). — 1953. *Symp. Soc. gen. Microbiol.*, 1-20.

- STANIER (R. Y.), DOUDOROFF (M.) et ADELBURG (E. A.). — 1966. *Microbiologie générale* (traduction en français), Masson et C^{ie}, Paris.
- STANOVICK (R.), GIDDENS (J.) et MCCREERY (R. A.). — 1961. *Soil Sci.*, **92**, 183-187.
- STAPP (C.) et BORTÉLS (H.). — 1935. *Zentbl. Bakt. ParasitKde*, II, **93**, 45-66.
- STARK (E.) et TETRAULT (P. A.). — 1951. *Can. J. Bot.*, **29**, 104-112.
- STARKEY (R. L.). — 1946. *J. Bact.*, **51**, 33-50.
- STARKEY (R. L.). — 1956. *Ind. Eng. Chem.*, **48**, 1429-1437.
- STARKEY (R. L.). — 1966. *Soil Sci.*, **101**, 297-306.
- STEELINK (C.). — 1964. *Geochim. cosmochim. Acta*, **28**, 1615-1622.
- STEINBERG (R. A.). — 1947. *J. agric. Res.*, **75**, 81-92.
- STEUBING (L.). — 1967. *Z. angew. Bot.*, **40**, 275-286.
- STEVENSON (F. J.). — 1960. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **24**, 472-477.
- STEVENSON (F. J.) et MENDEZ (J.). — 1967. *Soil Sci.*, **103**, 383-388.
- STEVENSON (G.). — 1959. *Ann. Bot.*, **23**, 622-635.
- STEVENSON (G.). — 1964. *Trans. Br. mycol. Soc.*, **47**, 331-339.
- STEVENSON (I. L.). — 1956. *Pl. Soil*, **8**, 170-182.
- STEVENSON (I. L.). — 1959. *Can. J. Microbiol.*, **5**, 229-235.
- STEVENSON (I. L.). — 1964. In *Chemistry of the Soil* (Bear, ed.), Reinhold, New York, 242-291.
- STEVENSON (I. L.). — 1967. *Can. J. Microbiol.*, **13**, 205-211.
- STEWART (B. A.), PORTER (L. K.) et VIETS (F. G.). — 1966. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **30**, 453-456.
- STEWART (W. P. D.). — 1962. *J. exp. Bot.*, **13**, 250-256.
- STEWART (W. P. D.). — 1963. *Z. allg. Mikrobiol.*, **3**, 152-156.
- STEWART (W. P. D.). — 1966. *Nitrogen Fixation in Plants*, Athlone Press, London.
- STEWART (W. P. D.). — 1967. *Annals of Botany*, N.S., **31**, 385-407.
- STEWART (W. P. D.) et PEARSON (M. C.). — 1967. *Pl. Soil*, **26**, 348-360.
- STEWART (W. P. D.), FITZGERALD (G. P.) et BURRIS (R. H.). — 1967. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **58**, 2071-2078.
- STOLP (H.). — 1968. *Naturwissenschaften*, **55**, 57-63.
- STOLZY (L. H.) et LETEY (J.). — 1964. *Adv. Agron.*, **16**, 249-279.
- STOTZKY (G.). — 1966. *Can. J. Microbiol.*, **12**, 831-848.
- STOUT (J. D.). — 1962. *J. gen. Microbiol.*, **27**, 209-219.
- STOUT (J. D.). — 1964. *N. Z. J. agric. Res.*, **7**, 91-117.
- STOUT (J. D.) et HEAL (O. W.). — 1967. In *Soil Biology* (Burgess, Raw, ed.), Academic Press, London, 149-195.
- STOVER (R. H.). — 1962. *Recent Progress in Microbiology*, **8**, 267-275.
- STOVER (R. H.) et FREIBERG (S. R.). — 1958. *Nature*, **181**, 788-789.
- STROMINGER (J. L.) et GHUYSEN (J. M.). — 1967. *Science*, **156**, 213-221.
- STRIJDOM (B. W.). — 1965. *S. Afr. J. agric. Sci.*, **8**, 853-861.
- STRIJDOM (B. W.) et STEENKAMP (C. J.). — 1967. *S. Afr. J. agric. Sci.*, **10**, 197-202.
- STRZELCZYK (E.). — 1958. *Acta microbiol. pol.*, **7**, 115-123.
- STRZELCZYK (E.). — 1961. *Can. J. Microbiol.*, **7**, 507-513.
- STRZELCZYK (E.). — 1963. *Acta microbiol. pol.*, **12**, 211-223.
- STRZELCZYK (E.). — 1966. *Annales Inst. Pasteur*, **111**, 314-317.
- STRZELCZYKOWA (A.) et STRZELCZYK (E.). — 1961. *Acta microbiol. pol.*, **10**, 101-107.
- STUDER (R.) et BLANCHET (R.). — 1964. *Sci. Sol*, 119-129.

- STUTZENBERGER (F. J.) et BENNETT (E. O.). — 1965. *Appl. Microbiol.*, **13**, 570-574.
- SUBRAHMANYAN (R.), RELWANI (L. L.) et MANNA (G. B.). — 1964. *Proc. Indian Acad. Sci.*, **60 B**, 293-297.
- SUNDARA RAO (W. V. B.), BAIJAI (P. D.), SHARMA (J. P.) et coll. — 1963a. *Proc. Indian Acad. Sci.*, **11**, 209-219.
- SUNDARA RAO (W. V. B.), MANN (H. S.), PAUL (N. B.) et coll. — 1963b. *Indian J. agric. Sci.*, **33**, 279-290.
- SUNDMAN (V.). — 1965. *Acta polytech. scand.*, n° 40.
- SUNDMAN (V.) et HARO (K.). — 1966. *Finska kemists. Medd.*, **75**, 111-118.
- SUSHKINA (N. N.). — 1965. *Dokl. Soil Sci.*, **13**, 1561-1563.
- SWABY (R. J.). — 1962. *International Soil Conf. New Zealand, Palmerston*, 159-172.
- SWABY (R. J.). — 1966. *FAO/IAEA Technical meeting Brunswick Völkensrode*, 21-31.
- SWABY (R. J.) et LADD (J. N.). — 1962. *Trans. int. Soc. Soil Sci.*, **4-5**, 197-202.
- SWABY (R. J.) et SPERBER (J.). — 1958. *Soils Fertil.*, **22**, rés. n° 286.
- SZABO (I.). — 1964. *Soils Fertil.*, **1965**, **28**, rés. n° 1709.
- SZABO (I.), MARTON (M.), VARDA (L.) et SCHONFELD (S.). — 1962. *Soviet Soil Sci.*, **10**, 1179-1187.
- SZABO (I.), BARTFAY (T.) et MARTON (M.). — 1967. In *Progress Soil Biology* (Graff, Satchell, ed.), Vieweg, Braunschweig, 475-489.
- SZEGI (J.). — 1962. *Soils Fertil.*, **25**, rés. n° 3357.
- SZEGI (J.). — 1964. *Soils Fertil.*, **28**, rés. n° 282.
- SZEGI (J.). — 1967. *Acta agron. hung.*, **16**, 367-373.
- SZEGI (J.) et TIMAR (E.). — 1965. *Acta agron. hung.*, **13**, 337-348.
- TABAK (H. H.) et COOKE (W. B.). — 1968. *Bot. Rev.*, **34**, 126-252.
- TAKAI (Y.) et ASAMI (T.). — 1962. *Soil Sci. Pl. Nutr.*, **8**, 40-44.
- TAKAI (Y.) et KAMURA (T.). — 1966. *Folia microbiol.*, **11**, 304-313.
- TAKIJIMA (Y.), SHIOJIMA (M.) et KONNO (K.). — 1962. *J. Sci. Soil, Tokyo*, **33**, 331-334, 335-338, 365-368, 369-372 et 417-420.
- TAMM (E.) et KRZYSCH (G.). — 1963. *Z. Acker- u. Pflbau*, **117**, 359-378.
- TARDIEUX (P.), CHALVIGNAC (A.), CHARPENTIER (M.) et coll. — 1961. *Annales Inst. Pasteur*, **100**, 243-247.
- TARDIEUX-ROCHE (A.). — 1966. *Annales agron.*, **17**, 403-471 et 479-528.
- TAYLOR (G. S.) et PARKINSON (D.). — 1965. *Pl. Soil*, **22**, 1-20.
- TAYLOR (S. A.), EVANS (D. D.) et KEMPER (W. D.). — 1961. *Evaluating Soil Water*, Utah State Univ., Logan, Agric. Bull., 426.
- TCHAN (Y. T.). — 1953. *Proc. Linn. Soc. N. S. W.*, **78**, 85-98 et 171-178.
- TCHAN (Y. T.) et WHITEHOUSE (J. A.). — 1953. *Proc. Linn. Soc. N. S. W.*, **78**, 3-4 et 160-170.
- TCHAN (Y. T.) et BEADLE (N. C. W.). — 1955. *Proc. Linn. Soc. N. S. W.*, **80**, 97-104.
- TCHAN (Y. T.) et JENSEN (H. L.). — 1963. *Proc. Linn. Soc. N. S. W.*, **88**, 379-385.
- TEPPER (E. Z.). — 1962. *Izv. timiryazev. sel'-khoz Akad.*, n° 6, 97-104.
- TEŠIĆ (Ž.) et TODOROVIC (M.). — 1953. *Sixième Congrès intern. Microbiol., Rome*, **18**, 356-361.
- THALMANN (A.). — 1966. *Biol. Sol*, **6**, 46-47.
- THERON (J. J.). — 1951. *J. agric. Sci.*, **41**, 289-296.
- THERON (J. J.). — 1963. *S. Afr. J. agric. Sci.*, **6**, 155-164.
- THOMPSON (L. M.), BLACK (C. A.) et CLARK (F. E.). — 1949. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **13**, 242-245.

- THORNTON (H. G.). — 1956. *Proc. R. Soc. B.*, **145**, 364-374.
- THUNG (T. H.). — 1955. *Congr. Sci. Intern. Tabac, Paris Bergerac*, **2**, 684-685.
- TICHY (V.). — 1962. *Publ. Fac. Sci. Univ. J. E. Purkyne*, **436**, 379-394.
- TIMONIN (M. I.). — 1946. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **11**, 284-292.
- TIMONIN (M. I.). — 1950. *Quatrième Congrès intern. Sci. Sol, Amsterdam*, 97-99.
- TIMONIN (M. I.). — 1964. *Can. J. Microbiol.*, **10**, 17-22.
- TÖRNE (E. VON). — 1966. *Pedobiologia*, **6**, 226-237.
- TOUSSOUN (T. A.). — 1963. *Nature*, **197**, 1314-1316.
- TRECCANI (V.). — 1965. *Ann. Ist. super. Sanita*, **1**, 805-819.
- TRIBE (H. T.). — 1960. In *The Ecology of Soil Fungi* (Parkinson, Waid, ed.), Liverpool, 246-256.
- TRIBE (H. T.). — 1966. *Trans. Br. mycol. Soc.*, **49**, 457-466.
- TRIBE (H. T.) et WILLIAMS (P. M.). — 1967. *Can. J. Microbiol.*, **13**, 467-480.
- TRIBUNSKAJA (A. J. A.). — 1962. *Mikrobiologiya*, **31**, 307-313.
- TROJANOWSKI (J.) et MATWIJOW (J.). — 1964. *Roczn. Glebozn.*, **14**, 45-50.
- TROLLDENIER (G.). — 1965. *Zentbl. Bakt. Parasitkde*, II, **119**, 256-258.
- TSCHAPEK (M.) et GIAMBIAGI (N.). — 1956. *Sixième Congrès Sci. Sol, Paris*, C, 181-187.
- TSYURUPA (I. G.). — 1964. *Pochvovedenie*, n° 3, 46-52.
- TURNER (G. O.), WARREN (L. E.) et ANDRIESSEN (F. G.). — 1962. *Soil Sci.*, **94**, 270-273.
- TYLER (P. A.) et MARSHALL (K. C.). — 1967. *J. Bact.*, **93**, 1132-1136.
- ULRICH (J. M.). — 1960. *Physiologia Pl.*, **13**, 429-443.
- UNZ (R. F.) et LUNDGREN (D. G.). — 1961. *Soil Sci.*, **92**, 302-313.
- URITANI (I.) et AKAZAWA (T.). — 1959. In *Plant Pathology* (Horsfall, Dimond, ed.), t. I, 349-390.
- U.S. Salinity Lab. Staff. — 1954. *Diagnosis and Improvement of Saline and Alkali Soils*, USDA Handb., 60, Washington.
- VAARTAJA (O.). — 1967. *Can. J. Microbiol.*, **13**, 771-776.
- VÁGNEROVÁ (K.). — 1965. In *Plant Microbes Relationships* (Macura, Vančura, ed.), Czechos. Acad. Sci., Prague, 34-41.
- VALERA (C. L.) et ALEXANDER (M.). — 1965. *J. Bact.*, **89**, 1134-1139.
- VALLÉE (G.). — 1967. *Annales Sci. forest.*, **24**, 259-275.
- VALORAS (N.) et LETEY (J.). — 1966. *Soil Sci.*, **101**, 210-215.
- VÁMOS (R.). — 1959. *Pl. Soil*, **11**, 65-77.
- VÁMOS (R.) et ANDO (M.). — 1960. *Acta geographica*, **4**, 45-64.
- VANČURA (V.). — 1961. *Nature*, **192**, 88-89.
- VANČURA (V.). — 1964. *Pl. Soil*, **21**, 231-248.
- VANČURA (V.) et HOVADÉK (A.). — 1965. *Pl. Soil*, **22**, 21-32.
- VANČURA (V.), MACURA (J.) et SZOLNOKI (J.). — 1964. *Huitième Congrès intern. Sci. sol, Bucarest*, **3**, 779-789.
- VANČURA (V.), ABD-EL-MALEK (Y.) et ZAYED (M. N.). — 1965. *Folia microbiol.*, **10**, 224-229.
- VAN PARIJS (R.). — 1961. *Arch. int. Physiol. Biochem.*, **69**, 153-160.
- VAN DER WANT (J. P. H.). — 1951. *Conf. Potato Virus Diseases, Wageningen*, 71-75.
- VAN SCHREVEN (D. A.). — 1959. *Pl. Soil*, **11**, 93-112.
- VAN SCHREVEN (D. A.). — 1963a. *Pl. Soil*, **19**, 1-18.
- VAN SCHREVEN (D. A.). — 1963b. *Pl. Soil*, **18**, 163-175.

- VAN SCHREVEN (D. A.). — 1964. *Pl. Soil*, **21**, 283-302.
- VAN SCHREVEN (D. A.). — 1965. *Annales Inst. Pasteur*, **109**, 19-49.
- VAN SCHREVEN (D. A.) et HARMSSEN (G. W.). — 1968. In *The Ecology of Soil Bacteria* (Gray, Parkinson, ed.), Liverpool Univ. Press, 474-499.
- VARGUES (H.). — 1962. *Thèse*, Fac. Sci. Poitiers.
- VASILENKO (Ye. S.). — 1962. *Soviet Soil Sci.*, **11**, 1267-1272.
- VELA (G. R.) et WYSS (O.). — 1962. *Bact. Proc.*, **62**, 24.
- VELDKAMP (H.). — 1968. In *The Ecology of Soil Bacteria* (Gray, Parkinson, ed.), Liverpool Univ. Press, 201-219.
- VENKATA RAM (C. S.). — 1960. *Nature*, **187**, 621-622.
- VENKATESAN (R.). — 1962. *Thèse*, Annamalai Univ., S. India.
- VERONA (O.). — 1960. *Ann. Fac. Agr.*, **21**, 71-88.
- VERONA (O.). — 1963. *Annales Inst. Pasteur*, **105**, 75-98.
- VILAIN (M.) et DRUELLE (J. P.). — 1967. *Annales agron.*, **18**, 507-528.
- VINCENT (J. M.). — 1965. In *Soil Nitrogen* (Bartholomew, Clark, ed.), Amer. Soc. Agron., Madison, 384-435.
- VINCENT (J. M.). — 1966. *Rhizobium Newsletter*, **11**, 15-24.
- VINCENT (J. M.). — 1967. *Aust. J. Sci.*, **29**, 192-197.
- VINCENT (J. M.), THOMPSON (J. A.) et DONOVAN (K. O.). — 1962. *Aust. J. agric. Res.*, **13**, 258-270.
- VIRTANEN (A. I.). — 1928. *Biochem. Z.*, **193**, 300-314.
- VIRTANEN (A. I.) et HUKKI (J.). — 1946. *Suomen Kemistilehti*, **19-B**, 4-13.
- VIRTANEN (A. I.), HAUSEN (S. VON) et LAINE (T.). — 1937. *J. agric. Sci.*, **27**, 584-610.
- VISONA (L.) et TARDIEUX (P.). — 1964. *Annales Inst. Pasteur*, **107**, 297-302.
- VISSEER (S. A.). — 1964a. *Proc. E. Afr. Acad.*, **11**, 18-23.
- VISSEER (S. A.). — 1964b. *Annales Inst. Pasteur*, **107**, 303-319.
- VOETS (J. P.) et DEDEKEN (M.). — 1966. *Annales Inst. Pasteur*, **111**, 197-207.
- VOLKOVA (L. P.). — 1961. *Izv. Akad. Nauk SSSR, sér. Biol.*, n° 1, 101-106.
- VOSE (P. B.) et JONES (D. G.). — 1963. *Pl. Soil*, **17**, 372-385.
- VOZNIAKOVSKAJA (Ju. M.) et KHUDIAKOV (Ja. P.). — 1960. *Mikrobiologiya*, **92**, 97-103.
- VRANÝ (J.). — 1965. In *Plant Microbes Relationships* (Macura, Vančura, ed.), Czechos. Acad. Sci., Prague, 84-90.
- VRANÝ (J.), VANČURA (V.) et MACURA (J.). — 1962. *Folia microbiol.*, **7**, 61-70.
- WAKSMAN (S. A.). — 1931. *Arch. Mikrobiol.*, **2**, 136-154.
- WAKSMAN (S. A.). — 1952. *Soil Microbiology*, Wiley, New York.
- WAKSMAN (S. A.) et IYER (K. R. N.). — 1932. *Soil Sci.*, **34**, 43-69.
- WARCUP (J. H.). — 1951. *Ann. Bot.*, **15**, 305-317.
- WARCUP (J. H.). — 1952. *Trans. Br. mycol. Soc.*, **35**, 248-262.
- WARCUP (J. H.). — 1955. *Trans. Br. mycol. Soc.*, **38**, 298-301.
- WARCUP (J. H.). — 1959. *Trans. Br. mycol. Soc.*, **42**, 45-52.
- WARCUP (J. H.). — 1960. In *Ecology of Soil Fungi* (Parkinson, Waid, ed.), Liverpool Univ. Press, 3-21.
- WARCUP (J. H.). — 1965. In *The Ecology of Soil-borne Plant Pathogens* (Baker, Snyder, ed.), Univ. California Press, 52-67.
- WARCUP (J. H.) et TALBOT (P. H. B.). — 1962. *Trans. Br. mycol. Soc.*, **45**, 495-518.
- WARCUP (J. H.) et BAKER (K. F.). — 1963. *Nature*, **197**, 1317-1318.

- WARING (S. A.) et BREMNER (J. M.). — 1964. *Nature*, **201**, 951-952.
- WARINGTON (R.). — 1891. *J. chem. Soc.*, **59**, 484-529.
- WATANABE (A.). — 1954. *Int. Rice Com. Newsletter*, **12**, 13-15.
- WATANABE (A.). — 1962. *J. gen. appl. Microbiol.*, **8**, 85-91.
- WATANABE (A.), NISHIGAKI (S.) et KONISHI (C.). — 1951. *Nature*, **168**, 748-749.
- WATSON (A. G.). — 1966. *N. Z. J. agric. Res.*, **9**, 931-955 et 956-963.
- WEBB (S. J.), CORMACK (D. V.) et MORRISON (H. G.). — 1964. *Nature*, **201**, 1103-1105.
- WEBER (D. F.) et GAINES (P. L.). — 1962. *Soil Sci.*, **94**, 138-145.
- WEBLEY (D. M.) et DUFF (R. B.). — 1965. *Pl. Soil*, **22**, 307-313.
- WEBLEY (D. M.), HENDERSON (M. E. K.) et TAYLOR (I. R.). — 1963. *J. Soil Sci.*, **14**, 102-112.
- WEBLEY (D. M.), DUFF (R. B.), BACON (J. S. D.) et FARMER (V. C.). — 1965. *J. Soil Sci.*, **16**, 149-157.
- WEBSTER (J. R.). — 1962. *J. Ecol.*, **50**, 619-637 et 639-650.
- WEBSTER (S. R.), YOUNGBERG (C. T.) et WOLLUM (A. G.). — 1967. *Nature*, **216**, 392-393.
- WEHRMANN (J.). — 1967. *Sonderh. landw. Forsch.*, **21**, 64-79.
- WELTE (E.). — 1955. *Angew. Chem.*, **67**, 153-155.
- WELTE (E.) et TROLLDENIER (G.). — 1965. In *Plant Microbes Relationships* (Macura, Vančura, ed.), Czechos. Acad. Sci., Prague, 186-192.
- WENT (J. C.) et DE JONG (F.). — 1966. *Antonie van Leeuwenhoek*, **32**, 39-56.
- WETSelaar (R.). — 1968. *Pl. Soil*, **24**, 9-17.
- WHITEHEAD (D. C.). — 1963. *Soils Fertil.*, **26**, 217-223.
- WHITEHEAD (D. C.). — 1964. *Soils Fertil.*, **27**, 1-8.
- WHITNEY (A. S.), KANEHIRO (Y.) et SHERMAN (G. D.). — 1967. *Agron. J.*, **59**, 47-50.
- WHITTIG (L. D.), JANITZKY (P.). — 1963. *J. Soil Sci.*, **14**, 322-333.
- WIERINGA (K. T.). — 1958. In *Nutrition of the Legumes* (Hallsworth, ed.), Butterworths, London, 256-267.
- WIERINGA (K. T.). — 1964. *Pl. Soil*, **21**, 333-334.
- WILHELM (S.). — 1965. In *Ecology of Soil-borne Plant Pathogens* (Baker, Snyder, ed.), Univ. California Press, 509-518.
- WILER (J.) et DELWICHE (C. C.). — 1954. *Pl. Soil*, **5**, 155-169.
- WILLIAMS (C. H.). — 1967. *Pl. Soil*, **26**, 205-223.
- WILLIAMS (S. T.), PARKINSON (D.) et BURGESS (N. A.). — 1965. *Pl. Soil*, **22**, 167-186.
- WILLIAMS (W. A.), MIKKELSEN (D. S.), MUELLER (K. E.) et coll. — 1968. *Pl. Soil*, **28**, 49-60.
- WILLIS (W. H.) et GREEN (V. E.). — 1948. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **13**, 229-237.
- WILSON (A. C.) et PARDEE (A. B.). — 1962. *J. gen. Microbiol.*, **28**, 283-303.
- WINOGRADSKY (S.). — 1890. *Annales Inst. Pasteur*, **4**, 213-231, 257-275 et 760-771.
- WINOGRADSKY (S.). — 1891. *Annales Inst. Pasteur*, **5**, 577-616.
- WINOGRADSKY (S.). — 1949. *Microbiologie du Sol*, Masson et C^{ie}, Paris.
- WINSOR (G. W.). — 1958. *Sci. Food Agric.*, **12**, 792-801.
- WITKAMP (M.). — 1966. *Ecology*, **47**, 492-494.
- WITKAMP (M.) et CROSSLEY (D. A., Jr.). — 1966. *Pedobiologia*, **6**, 293-303.
- WOLCOTT (A. R.), FOTH (H. D.), DAVIS (J. F.) et SHICKLUNA (J. C.). — 1965. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **29**, 405-410.
- WOLDENDORP (J. W.). — 1963. *Thèse*, Wageningen.
- WOLDENDORP (J. W.). — 1965. *Annales Inst. Pasteur*, **109**, 316-327.
- WOLLUM (A. G.), YOUNGBERG (C. T.) et GILMOUR (C. M.). — 1966. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **30**, 463-467.

- WRIGHT (J. M.). — 1954, 1955, 1956. *Ann. Appl. Biol.*, **41**, 280-289, **43**, 288-296, **44**, 461-466, **44**, 561-566.
- WRIGHT (J. R.) et SCHNITZER (M.). — 1963. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **27**, 171-176.
- WULLSTEIN (L. H.) et GILMOUR (C. M.). — 1964. *Soil Sci.*, **97**, 428-430.
- YAMANE (Y.) et SATO (K.). — 1963. *Soil Sci. Pl. Nutr.*, **9**, 32-36.
- YEE (J. Y.) et LOVE (K. S.). — 1946. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, **11**, 389-392.
- YEVDOKIMOVA (T. I.). — 1962. *Soviet Soil Sci.*, **8**, 852-855.
- YEZHOF (Yu. I.). — 1962. *Soviet Soil Sci.*, **2**, 165-170.
- YOSHIDA (T.) et SAKAI (H.). — 1963. *Res. Bull. Hokkaido nat. agric. Exp. St.*, **82**, 23-27.
- YUAN (W. L.) et PONNAMPERUMA (F. N.). — 1966. *Pl. Soil*, **25**, 347-360.
- YURKEVICH (I. D.), SMOLYAK (L. P.) et GARIN (B. E.). — 1966. *Soviet Soil Sci.*, **2**, 159-167.
- ZACHARIAE (G.). — 1963. In *Soil Organisms* (Doeksen, Van der Drift, ed.), North-Holland, Amsterdam, 109-124.
- ZACHARIAS (B.). — 1963. *Acta chem. scand.*, **17**, 1599-1603, 2221-2224 et 2225-2229.
- ZAIMOV (K. K.) et FIL'KOV (V. A.). — 1963. *Pochvovedenie*, n° 4, 87-92.
- ZAK (B.). — 1964. — *Ann. Rev. Phytopathol.*, **2**, 377-392.
- ZAVARZIN (G. A.). — 1962. *Mikrobiologiya*, **31**, 586-588.
- ZELAZNA (I.). — 1964. *Acta microbiol. polon.*, **13**, 283-298.
- ZIECHMANN (W.) et PAWELKE (G.). — 1959. *Z. PflErnähr. Düng. Bodenk.*, **84**, 174-184.
- ZINKE (P. J.). — 1962. *Ecology*, **43**, 130-133.
- ZITILE (C. A.). — 1953. *Adv. Enzymol.*, **14**, 319-374.
- ZVYAGINTSEV (D. G.). — 1959. *Mikrobiologiya*, **28**, 527-533.
- ZVYAGINTSEV (D. G.). — 1962a. *Pochvovedenie*, n° 2, 19-25.
- ZVYAGINTSEV (D. G.). — 1962b. *Mikrobiologiya*, **31**, 111-115 et 339-343.
-

INDEX ALPHABÉTIQUE DES MATIÈRES

- Acide indol-acétique, 566, 607, 625, 662
 Acidification, 248, 350
 Activation (stimulation, *priming effect*), 216, 336, 522
 Adaptation, 509, 588
 Adhésion (cellules microbiennes), 467
 Agrégat, *voir* structure
 Alcalinisation, 254, 352, 472
 Allochtone (microflore), 740
 Allophane, 458, 460
 Altération (minéraux, roches), 247, 261-265, 281-282, 293-294, 573
 Aluminium,
 — migration, 296
 — toxicité, 171, 381-382, 390
 Amendements, 675, 715-718
 Amidon, 43, 44, 103-105, 414, 540, 544, 660
 Ammonification,
 — biologique, 154, 188-197, 486, 514-517, 525, 541
 — non biologique, 192, 416
 Ammonium,
 — échangeable, 206, 472
 — fixé, 207, 457, 472
 Amylase, 76, 78, 416, 448
 Antagonismes, 148, 575-577, 689-720, 723
 Antibiotiques (substances), 28, 148, 149, 466, 545, 569-570, 576-577, 584, 662, 672, 702-707, 716, 718
 Anticryptogamiques, *voir* pesticides
 Applications foliaires (effets), 582-585
 Aptitude saprophytique compétitive, 39, 42, 523, 671, 673, 726
 Argiles, 315, 320, 321, 325, 340, 456-475
 — antibiotiques et, 466
 — enzymes et, 85, 463-466
 — effet sur la nitrification, 207, 463, 471
 — effet sur la fixation d'azote, 167, 472
 — effet du pouvoir tampon, 469
 — effet sur le pH, 470-472
 — effet protecteur, 325, 473-475
 — et pesticides, 501, 507
 — substrats, 459-463
 Arrière-effet (arrière-action), 215, 217
 Ascomycètes, 31, 39, 44, 110, 129, 140, 653, 658
 Associations synergiques, 575, 679-688, 734
 — cellulolytiques, 121, 684-686
 — engrais bactériens, 589
 — fixatrices d'azote, 682-684
 — mycorrhiziennes, *voir* mycorrhizes
 — mycostatiques, 686
 — nitrificatrices, 203, 686
 — oxydatives du Mn, 687
 — phytopathogènes, 686
 Athiorhodacées, 453
 Atmosphère du sol,
 — influence des micro-organismes sur l', 345, 453
 — influence sur les micro-organismes, 426, 436-437, 695
 Autochtone (microflore), 47, 323, 740
 Autotrophe, 14
 Azote (transformations microbiennes),
 — ammonification, 183-197, 572
 — coefficient de minéralisation, 380

- cycle interne, 211-219
- dénitrification, 219-227, 406, 421, 437, 480, 519, 572
- fixation symbiotique, *voir Rhizobium*, Légumineuses, non-Légumineuses
- fixation non symbiotique, 35, 56, 121, 158-182, 390, 403, 442, 472, 517-519, 525, 544, 573, *voir aussi Azotobacter*
- immobilisation, 189, 211-219
- minéralisable, 536
- minéralisation, 183-219.
- nitrification, 119, 198-211, 480, 502, 520, 525, 526, 572
- Azote (transformations non microbiennes),
 - ammonification, 192, 416
 - complexation, 196, 459-461
 - dénitrification, 230-231
 - fixation photochimique, 229
 - fixation (NH_4^+), 188, 207, 457, 472
 - nitrification (photonitrification), 201
 - réversion, 196, 212
 - volatilisation, 229
- Azote (gains et pertes), 228-232
- Azotobacter*, 13, 121, 134, 154, 161-169, 181, 320, 404, 414, 417, 442, 450, 472, 502, 518-520, 532, 537, 544, 545, 553, 562, 566, 568, 570, 573, 576, 586, 589, 591, 682, 703, 730, 741
- Azotobactérine, 586-593
- Bactéries,**
 - ferrugineuses filamenteuses, 19, 273
 - photosynthétiques, 175-176, 245-246, 455, 683
 - des silicates, 281-282, 586
 - sulfureuses filamenteuses, 20, 244
- Bactériolyse, 694
- Bactérisation, *voir* inoculation des Légumineuses
- Bactéroïde, 599-600, 609
- Basidiomycètes, 32, 38, 39, 42, 46, 47, 111, 115, 140, 142, 149, 323, 658, 660, 666, 673, 723
- Bavendamm (réaction de), 134, 141, 142, 315, 325
- Beggiatoales, *voir* Bactéries sulfureuses filamenteuses
- Beijerinckia*, 169-174, 361, 404, 418, 488, 532, 553, 562, 566, 573, 684, 741
- Bentonite, 340, 461, 464
- Biodégradation, 96, 509
- Bore, 378, 582, 626, 634
- Calcium, 164, 171, 177, 187, 363, 621, 624, 644, *voir aussi* chaulage
- Capacité au champ, 398
- Capacité de rétention, 398
- Carbone minéralisable, 486
- Carbonates, 60, 254
- Catalase, 77, 79
- Catena, *voir* chaîne
- Cellulose, cellulolyse, 105-123, 154, 315, 319, 525, 661, 683, 685, 729, 733, 738
- Chaîne, 741
- Chaulage, 58, 238, 246, 248, 368, 390, 535, 624, 626, 633, 690, 699
- Chélates, chéluviation, 289, 294
- Chernozem, 339-341, 486, 665, 704, 706
- Chimiolithotrophe, 15
- Chimio-organotrophe, 15
- Chitine, chitinase, 28, 106, 128-131, 311, 707, 717-718, 729, 738
- Chlamydo bactériales, *voir* Bactéries ferrugineuses filamenteuses
- Cobalt, 622, 626, 634, 645
- Colloïdes minéraux, *voir* argiles
- Colloïdes organiques, *voir* humus
- Colmatage, 372
- Colonisation, 546, 547, 589
- Commensalisme, 679
- Compétition,
 - entre micro-organismes, 59, 121, 576, 671, 696-701, 726
 - entre végétaux, 563, 694
- Complexes,
 - agrégatifs, 361
 - argilo-humiques, *voir* c. organo-minéraux
 - enzymatiques, 78
 - organo-métalliques, 276, 283, 289-297
 - organo-minéraux, 96, 343, 365, 459-461
 - protéines - composés phénoliques, 195
 - protéines - composés humiques, 195
 - tannins - protéines, 118, 120, 150, 302, 335
- Concrétions, 278

- Consommateurs, 94, 735, 737, 738
Contrôle biologique, *voir* lutte biologique
Corrosion des matériaux, 248-249, 255-256
Cuirasse, 278-297
Cultivés (sols), 34, 43-45, 58, 110, 115, 122, 183, 336, 342, 485
Cultures associées, 619
Cutine, 151, 335, 546
Cyanamide calcique, 190, 353
Cyanophycées, 49-50, 53, 56-59, 176-178, 184-185, 389, 404, 424, 452, 650-653

Décomposeurs, 94, 735, 737, 738
Dénitrification, *voir* azote
Derxia, 174
Déshydrogénasique (activité), 79-80, 83, 88
Déshumification, 93, 322-326, 445, 487, 740
Désinfection par la chaleur, *voir aussi* stérilisation, 512, 524
Dessiccation, 54, 174, 415-422, 473-475, 622
Détoxication, 136, 517, 536, 571-572, 593
Deutéromycètes, 32, 38, 44, 110, 140, 726
Distribution,
— *Azotobacter*, 168
— *Beijerinckia*, 173-174, 419
— enzymes du sol, 491
— micro-organismes, 488-497
Dose létale, 500, 520
Drainage, 248, 254, 274

Eau,
— influence sur la microflore, 34, 43, 44, 54, 116, 145, 335, 393-425, 485, 486, 540, 541, 665, 726
— métabolique, 700
— tension, 396
— et humification, 337, 339, 340, *voir* dessiccation, engorgement, hydromorphes (sols), hygropériodisme
Echantillonnage, 420, 484, 492
Edifice structural, 355, 483
Effectivité (efficience), *voir Rhizobium*
Eh, *voir* oxydo-réduction
Engrais,
— bactériens, 266, 526, 586-594
— minéraux, 102, 121, 206, 215, 216, 217, 350, 582, 585, 591, 593, 621, 627, 634, 643, 644, 668, 675
— verts, 335-337, 368, 371, 527, 618, 716, 725
Engorgement, 144, 217, 341, 578, 628
Enzymes,
— du sol, 74-91, 389-390, 392, 416, 448, 463-466, 491, 521, 541, 561
— lytiques, 707
Eubactériales, *sensu lato*, 9-19
Exsudats (excréments ou exsorbats),
— foliaires, 47, 99, 290, 314, 543, 671
— microbiens, 181, 290, 568, 591
— racinaires, 47, 84, 314, 558-564, 619, 671, 674

Faune, 94, 122, 123, 149, 321, 721-736
Fer (transformations microbiennes),
— biodégradation des complexes, 276-277, 294-297
— oxydation, 271-274
— réduction, 274-276, 346, 400, 406
— solubilisation, 277, 289-294, 662
Ferrallitiques (sols), 174, 443, 718
Ferro-bactéries, 19, 272-274, 285
Fermentation, 15, 102, 119
Fongicides, *voir* pesticides
Fongistase, *voir* mycostase
Forestiers (sols), 35, 60, 88, 120, 122, 173, 210, 410, 485, 492, 531-537, 669, *voir* litière, mor, mull
Fulviques (acides), 143, 293, 300-344
Fumier, 110, 115, 116, 348, 368, 591, 694 703, 716, 718, 725
Fumigant, 501, 507
Fumure, *voir* engrais

Gaz carbonique,
— dégagement *in situ*, 96-97, 342, 345, 430, 438, 564, 735
— dégagement au laboratoire, 97, 411, 421, 564
— influence sur la microflore, 144, 431-433, 695-696
— teneur du sol, 428
Gel (froid), 100, 321, 339, 447-449
Gley (sols à), 100, 277-278, 340
Glucides, 98-131
Glucophile (microflore), 35, 39, 42, 47
Gommes microbiennes, 361, 467

Groupe,

- écologique (physiologique), 17-18, 41-42, 540
- écologique microfloristique, 742
- nutritionnel, 14-17, 540, 544, 554

Halomorphes, voir salés (sols)

Hémicellulose, 106, 118, 123-127, 728, 733, 735

Hémoglobine, 611, 614, 639

Hétérogénéité, 436, 491-492, *voir* distribution, microhabitat

Hétérotrophe, 14

Humidité, *voir* eau

Humidité équivalente, 398

Humiques,

- acides, 120, 300
- substances, 134, 143-146, 298-344

Humus, 86, 95, 96, 195, 235, 293, 298-344, 365-367, 419, 460, 570, 669, 732, 738, 740

— biodégradation, *voir* déshumification

Humus brut, *voir* mor

Hydrocarbures, 152-154, 367

Hydrogénase, 159, 175, 253, 256, 614, 683

Hydromorphes (sols), 60, 128, 152, 185, 208, 244, 245, 250, 254, 255, 264, 340, 346, 398-408, 664, 735, 741, *voir aussi* engorgement

Hygropériodisme, 268, 422-424

Hyphosphère, 713

Immobilisation,

- azote, 211-219
- brute, 211-213
- nette, 211-213
- phosphore, 269, 573
- potassium, 282
- soufre, 238-240

Imparfaits (Champignons), *voir* Deutéromycètes

Infectivité, *voir Rhizobium*

Inhibiteurs de nitrification, 209-211, 532-533

Inoculation,

- avec Algues, 404
- avec antagonistes, 714-715
- avec mycorrhizes, 674-675

— des non-Légumineuses non fixatrices d'azote, *voir* engrais bactériens

— des non-Légumineuses fixatrices d'azote, 641-642

— des Légumineuses (bactérisation), 419, 628-634

— des sols, 526-527, 715, 726

Inoculum (potentiel d'), 700, 719

Insolubilisation du fer, 256

Invertase, *voir* saccharase

Irradiation, 54, 75, 512-516, 518-521, 630

Irrigation, 255, 578, 590

Jachère, 239, 332-341, 373, 720

Kaolin, kaolinite, 340, 457-474

Krasnozém, 704

Krilium, 364

Légumineuses,

- cultures associées, 619
- déterminants génétiques, 616-617
- fixation *in situ*, 183, 618
- et nitrification, 211
- nodulation, 391, 608-614, 624-625
- rhizosphère, 553, 556, 694, 703
- rotations, 719-720
- symbiose-*Rhizobium*, 404-405, 436, 443, 445, 595-634

Lessivage, 223, 231, 258, 301, 350, 425, 491, 622, *voir* chéluviation

Levures, 33-35, 66, 153, 179, 352, 361, 387, 544, 555, 683-684

Lichens, 61, 184, 290, 652, 653, 679

Lignine, 95, 106, 108, 117, 119, 136-149, 311-314, 318-321, 335, 442, 728, 732, 733

Lipides, 151-152, 367, 544

Litière, 110, 140, 184, 210, 290, 315, 327, 328, 368, 386, 437, 444, 490, 531-537, 671, 692, 722, 725, 729, 731, 738-740, *voir* sols forestiers

Lumière, 53, 187, 201, 229, 452-455, 491, 544, 581, 620, 667

Lutte biologique, 540, 714-720, 722, 726

Lyophilisation, 441, 630

Lyse, *voir* bactériolyse, mycolyse

- Manganèse,**
— carence, 287
— oxydation, 283-287, 687
— réduction, 247, 287-288, 400, 406
— toxicité, 382-383, 390, 514
- Matière organique,**
— bilan, 92-97, 326-330
— effets généraux, 35, 56, 128, 326-337, 669, 721, 726, 730
— protection de la, *voir* stabilité
— fraîche, 215-216, 227, 391, 444, 460, 684, 738
— humifiée, *voir* humus
- Mélanine,** 315-318, 544
- Membrane enveloppante,** 599
- Mésafaune,** 39, 122, 317, 321, 727, 728, 736
- Microfaune,** 121
- Microhabitat,** 90, 224, 293, 349, 386-387, 437, 469, 472, 492-497, 548, 574, 706, 708, 713, 743
- Migration,** 294, *voir* chélates
- Minéralisation,**
— azote, 157, 183-219, 423
— azote microbien, 212
— brute, 157, 211-215
— carbone, 94, 96-97, 331, 341, 423
— coefficient (azote), 380
— définition, 96
— nette, 157, 211-215
— phosphore, 265-268, 423, 573
— potassium, 282
— soufre, 235-238
- Molybdène,** 164, 171, 177, 187, 626, 634, 644
- Montmorillonite,** 301, 325, 340, 457-474
- Mor,** 35-37, 95, 110, 115, 118, 120, 148, 195, 210, 317, 334, 343, 348, 391, 410, 446, 536, 665, 669
- Mucigel,** 559-560
- Mucorales,** 31, 125, 129, 151, 540
- Mull,** 36, 37, 115, 120, 146, 148, 314, 321, 341, 343, 348, 410, 446, 669, 729
- Mycélium,** 31, 37, 38, 316
- Mycobactéries,** 25, 178
- Mycolyse,** 37, 40, 129, 683, 693-694, 707
- Mycoparasitisme,** 149, 710-711
- Mycorrhizes,** 42, 46, 391, 563, 577-578, 598, 656-675, 695
- Mycostase (fongistase),** 40, 419, 690-693, 701, 708, 716, 736
- Myxobactéries,** 20-22, 110, 125, 129, 694, 707, 708
- Myxomycètes,** 28, 109, 707, 708
- Nématodes,** 373, 563, 707, 718, 722-726
- Niche écologique,** 41, 496, 522, 673
- Nitragine,** 628
- Nitrification,** 198-211, 263, 350, 380, 388, 391, 435-436, 471, 480, 535-536, 572, 686
— autotrophe, 198-199, 201-204
— hétérotrophe, 199-200, 204
— inhibiteurs, 209-211, 445
— photonitrification, 201
- Nitrites (accumulation),** 205
- Nitrogénase,** 159, 614
- Nodulation, voir** Légumineuses
- Non-Légumineuses fixatrices d'azote,** 635-655
- Oligonitrophile,** 33, 684
- Oomycètes,** 30, 38, 39, 43, 660
- Organisation du carbone,** 92
- Osmotique (tension),** 379-380, 394
- Oxygène,**
— diffusion, 436, 481, 483
— influence des micro-organismes, 345
— influence sur les micro-organismes, 102, 135, 144, 430-431, 435-436, 627, 642, 664
— rhizosphère, 564
— teneur du sol, 428
- Oxydo-réduction (potentiel),**
— influence des micro-organismes sur, 251, 346, 696
— influence sur les micro-organismes, 114, 399-408
- Paillis,** 535
- Parasitisme,** 149, 709-711
- Parasites des végétaux (Champignons),** 42, 46, 503, 521, 540, 712-720
- Pectiques (composés),** 105, 118, 127-128, 544
- Pédoscope,** 295, 493
- Peroxydase,** 77, 83, 286, 681

- Pesticides (fongicides, herbicides, insecticides, nématocides, etc.), 210, 445, 467, 498-527, 566, 584, 622, 630, 633, 670, 718-719, 735
- pF, 395
- pH,
- mesure du, 386
 - influence des argiles sur, 469-472
 - influence des micro-organismes sur, 349-353, 695
 - influence de la végétation sur, 492, 534
 - influence du, 34, 58, 114, 126, 128, 145, 340, 384-392, 643, 665
- Phages, voir virus
- Phénoliques (composés), 117, 128, 131-136, 142, 195, 290, 306-310, 313, 314-316, 321, 532-533, 543, 563, 570
- Phosphatases, 76, 78, 263, 491, 561
- Phosphore (transformations microbiennes),
- immobilisation, 269, 573
 - minéralisation, 265-268, 573
 - solubilisation, 121, 247, 261-265, 541, 573, 662, 729
- Phosphobactérine, 586
- Photonitrification, 201
- Phycomycètes, 31, 130
- Phyllosphère, 34, 127, 134, 151, 186, 315, 541-547
- Phytohormones, 566-568, 584, 592, voir acide indol-acétique
- Phytopathogènes, voir associations synergiques, lutte biologique
- Phytotoxiques (substances), 44, 136, 205, 255, 283, 515, 535-536, 568, 571-572, 578-579, 593, 671
- Podzols (et sols podzoliques), 60, 100, 146, 148, 278, 293, 296, 339, 341, 386, 490, 535, 591, 682, 704, 706
- Point de flétrissement permanent, 397, 412
- Polders, 248
- Polygalacturonase, 127, 561, 607
- Polyphénoloxydase, 83, 132, 134, 142, 307, 312, 315, 325, 670
- Polysaccharides, 100, 106, 123-131, 316, 361-365, 370-372, 539
- Pourriture des bois, 140, 142, 144-147, 313, 325, 733
- Pores, 394, 429, 482
- Potassium (transformations microbiennes),
- immobilisation, 282
 - minéralisation, 282
 - solubilisation, 281-282, 729
- Prairie (sols de), 35, 43, 99, 150, 227, 336, 531, 585, 671
- Prédation, voir Protozoaires, 708-709, 722, 723-726
- Priming effect (ou action), voir activation
- Probiotiques (substances), 16, 28, 527, 662, 681-682
- Producteurs, 48, 93, 327-330, 484, 737-738
- Protection de la matière organique, voir stabilité
- Protéolyse, 189
- Protozoaires, 63-69, 109, 110, 296, 680, 684, 710, 723
- Radiations, 53, 182, 501, 512, 513, 515, 518-521
- Radicaux libres, 134, 137, 143, 307, 308
- Rapport C/N,
- plante, 620, 625
 - exsudats racinaires, 572
 - matière organique, 41, 61, 118, 147, 215-216, 334, 352, 368, 372, 391, 446, 697, 698, 716, 731
- Rapport C/P, 268
- Rapport C/S, 237-238
- Rapport R/S, 550, 572, 582, 584-585
- Récalcitrance (résistance structurale à la biodégradation), 150, 153, 197, 335, 505
- Recolonisation, 517, 521-527, 719
- Rendement de fixation, 174, 175, 181-182, 688
- Rendzine, 340, 410, 411
- Renouvellement (turnover), 214
- Réorganisation, voir azote, immobilisation
- Résistance structurale à la biodégradation, voir récalcitrance
- Respiration, 80, 97, 102, 420, 478, voir gaz carbonique, oxygène
- Réversion, 189, 196, 207, 212
- Rhizobium*,
- antagonistes, 577, 703
 - bactéroïde, 599-600

- conservation dans le sol, 387, 419, 473-474, 502, 520, 525, 621-624, 629, 631
- efficacité (effectivité), 602, 613, 615-618
- excrétion, 568
- infectivité (virulence), 602, 605
- inoculation croisée, 602
- rhizobiophage, 623
- rhizosphère, 553, 554
- spécificité, 602
- structure antigénique, 601
- structure du sol, 361
- taxonomie, 602-605
- transformation, 634
- Rhizomorphe, 38, 42
- Rhizoplan, 549
- Rhizosphère, 68, 238, 264, 268, 286, 369, 548-594, 656
 - influence de la plante sur les micro-organismes, 35, 59, 121, 551-564, 712, 726
 - influence des micro-organismes sur la plante, 565-574, 713, *voir* exsudats
- Rizières, *voir* hydromorphes (sols)
- Saccharase (invertase), 76, 78, 82, 88, 416, 448, 464, 491, 561
- Saisons, *voir* variations saisonnières
- Salés (sols), 45, 57, 116, 168, 254, 377-381, 491, 578, 665, 669
- Séquence, *voir* chaîne
- Seuil hydrique d'activité microbienne, 397, 412, 415
- Sidérobactéries, *voir* Ferrobactéries
- Sierozems, 45, 57, 60, 339, 340, 694, 704
- Silico-bactéries, *voir* Bactéries des silicates
- Sols bruns lessivés, 296
- Sols carbonatés, *voir* carbonates
- Solution du sol, 434
- Soufre (transformations microbiennes),
 - immobilisation, 238-240
 - minéralisation, 235-238
 - oxydation (sulfo-oxydation), 240-250, 262
 - réduction (sulfato-réduction), 130, 250-256, 407, 437, 578-579
 - sulphydrisation, 234, 236
- Soufre (gains et pertes), 257-258
- Spectre microbien, 409
- Spermosphère, 83, 538-541, 546, 557
- Spores, 37, 39-41, 66, 417, 425, 673
- Sporosphère, 713
- Stabilité,
 - de l'équilibre biologique, 535
 - de la matière organique, 194-197, 235, 267, 370, 459-461, 479, 482, *voir* complexes
- Steppiques (sols), 43, 44, 121
- Stérilisation partielle, 353, 498, 512, 517, 520, 718-719
- Stimulation, *voir* activation
- Structure,
 - influence des micro-organismes sur la, 354-374, 392, 574
 - influence de la structure sur les micro-organismes, 476-483
- Substances de croissance, *voir* probiotiques
- Successions, 42, 737-740
- Sulfato-réduction, *voir* soufre
- Sulphydrisation, *voir* soufre
- Sulfo-oxydation, *voir* soufre
- Survie (taux de), 417
- Synergie, *voir* associations synergiques
- Takyr, 45, 46, 51, 59, 62
- Tannins, 95, 121, 150, 195, *voir aussi* complexes
- Température (influence sur les micro-organismes), 44, 45, 57, 116, 126, 146, 154, 338, 339, 438-451, 485, 486, 653, 666
- Tension,
 - hydrique, *voir* eau
 - osmotique, *voir* osmotique
- Termite, 731-734
- Texture, 55, 332, 339, 667, *voir* argiles
- Thermogénèse, 347-348
- Thermopériodisme, 449-450
- Thiobactériacées, 242-243
- Tourbe, 34, 99, 110, 118, 315, 335, 340, 360, 489, 514, 591, 630, 665, 725
- Toxiques (substances),
 - antimicrobiennes organiques, 35, 136, 148, 150, 196, 335, 425, 490, 532-534, 622, 631, 670, 671, 681, 701-708
 - antimicrobiennes minérales, 196, 377-383, 622
 - phytotoxiques, *voir* phytotoxiques

Travail du sol (façons culturales, labours ...),

58, 121, 341-342, 478, 534, 536, 718

Turnover, voir renouvellement

Uréase, 76, 78, 190

Urée, 190, 350, 582-583, 625

Urée-formaldéhyde, 191-192, 350

Vagues microbiennes, voir successions

Variations,

— nycthémerales, 352

— saisonnières, 89, 117, 120, 239-240, 422-424, 430, 484-487, 666

Vers de terre, 321, 343, 373-374, 729-731

Vertisols, 174, 443, 489, 535

Virus, 70-72, 474, 623, 710

Vitamines, 16-17, 62, 554, 560, 569, 600, 661, 680, 699, voir probiotiques

Zygomycètes, 31, 38, 43, 110, 660, 723

Zymogène (microflore), 47, 740

TABLE DES MATIÈRES

(Y. D. : partie rédigée par Yvon DOMMERGUES)

(F. M. : partie rédigée par François MANGENOT)

<i>Préface</i>	VII
<i>Introduction</i>	1
 PREMIÈRE PARTIE. — <i>Les éléments constitutifs de la microflore tellurique</i>	 7
CHAPITRE I. — <i>Les Bactéries</i> (Y. D.)	9
Eubactériales <i>sensu lato</i>	9
Chlamydo bactériales ou Bactéries ferrugineuses filamenteuses	19
Beggiatoales ou Bactéries sulfureuses filamenteuses	20
Myxobactériales	20
CHAPITRE II. — <i>Les Actinomycètes</i> (Y. D.)	23
CHAPITRE III. — <i>Les Champignons</i> (F. M.)	29
Aperçu systématique	29
Levures du sol	33
Les Champignons filamenteux	36
CHAPITRE IV. — <i>Les Algues</i> (F. M.)	48
Aperçu systématique	49
Numérations, biomasses	52
Influence des facteurs écologiques	53
Les relations entre Algues et Végétaux supérieurs	59
Répartition	59
Rôle des Algues	61
CHAPITRE V. — <i>Les Protozoaires</i> (Y. D.)	63
CHAPITRE VI. — <i>Les Virus</i> (Y. D.)	70

DEUXIÈME PARTIE. — <i>Influence de la microflore sur le milieu édaphique</i>	73
CHAPITRE I. — <i>Les enzymes du sol</i> (Y. D.)	74
Mise en évidence et mesure de l'activité enzymatique du sol	74
Origine des enzymes du sol	81
Etat des enzymes dans le sol	85
Facteurs écologiques régissant la répartition et l'activité des enzymes dans le sol	87
Rôle des enzymes dans le sol et signification des mesures de l'activité enzymatique	89
CHAPITRE II. — <i>Le cycle du carbone</i> (F. M.)	92
Généralités	92
Dégagement de gaz carbonique	96
Métabolisme des sources de carbone	98
Les glucides	98
Les substances aromatiques	131
Les constituants hydrophobes	151
CHAPITRE III. — <i>Cycle de l'azote</i> (Y. D.)	155
Fixation non symbiotique de l'azote moléculaire	158
L'ammonification	188
La nitrification	198
Le cycle interne de l'azote dans le sol	211
La dénitrification biologique	219
Gains et pertes d'azote d'origine biologique et non biologique	228
CHAPITRE IV. — <i>Transformations microbiennes du soufre</i> (Y. D.)	233
Minéralisation du soufre organique	235
Immobilisation du soufre minéral	238
Oxydation des composés minéraux du soufre ou sulfo-oxydation	240
La réduction des composés minéraux du soufre	250
Bilan du soufre dans le sol	257
CHAPITRE V. — <i>Transformations microbiennes du phosphore</i> (Y. D.)	259
Solubilisation microbienne des phosphates	261
Minéralisation microbienne du phosphore organique	265
Immobilisation microbienne du phosphore minéral	269
CHAPITRE VI. — <i>Transformations microbiennes du fer</i> (Y. D.)	271
Principales transformations de nature biologique	271

Rôle des micro-organismes dans les processus de réduction, de solubilisation et de précipitation du fer dans quelques types pédologiques	277
Importance relative des processus biologiques et non biologiques	279
CHAPITRE VII. — <i>Les transformations microbiennes du potassium et du manganèse</i> (Y. D.)	280
Transformations microbiennes du potassium	280
Transformations microbiennes du manganèse	282
CHAPITRE VIII. — <i>Les complexes organo-métalliques</i> (Y. D.)	289
CHAPITRE IX. — <i>Humification et déshumification</i> (F. M.)	298
Le concept d'humus	298
Aperçu chimique	302
Biochimie de l'humification	305
Les matières premières	311
La déshumification	322
Bilan de la matière organique	326
Facteurs de l'humification	333
CHAPITRE X. — <i>Modifications d'origine microbienne de la composition de l'atmosphère du sol et du potentiel d'oxydo-réduction</i> (Y. D.)	345
CHAPITRE XI. — <i>Thermogénèse microbienne</i> (Y. D.)	347
CHAPITRE XII. — <i>Modifications du pH d'origine microbienne</i> (Y. D.)	349
CHAPITRE XIII. — <i>Rôle des micro-organismes dans la genèse et dégradation de la structure</i> (Y. D.)	354
Rappel des notions de structure et de stabilité structurale	354
Mise en évidence de l'aggrégation d'origine microbienne	356
Micro-organismes responsables de l'aggrégation	357
Les mécanismes de l'aggrégation microbienne	359
Facteurs influant sur la genèse et la dégradation microbienne de la structure	367
Cinétique de l'aggrégation	371
Anomalies structurales d'origine biologique	372
Annexe (rôle de la microfaune dans l'édification de la structure)	373
TROISIÈME PARTIE. — <i>Influence du milieu édaphique sur la microflore</i>	375
CHAPITRE I. — <i>Les éléments minéraux en tant qu'agents toxiques</i> (Y. D.)	377
Biologie des sols salés	377

Toxicité aluminique	381
Toxicité manganique	382
CHAPITRE II. — <i>Le facteur pH</i> (Y. D.)	384
CHAPITRE III. — <i>Le facteur eau</i> (Y. D.)	393
Rappel de quelques concepts fondamentaux	394
Comportement de la microflore tellurique aux très fortes humidités : biologie des sols hydromorphes	398
Comportement de la microflore tellurique aux humidités moyennes	409
Comportement de la microflore tellurique aux faibles humidités	412
Comportement de la microflore tellurique pendant et après dessiccation	415
Hygropériodisme	422
L'eau en tant qu'agent de transport de composés minéraux et organiques ou de micro-organismes	424
CHAPITRE IV. — <i>Aération du sol</i> (Y. D.)	426
CHAPITRE V. — <i>Le facteur température</i> (Y. D.)	438
CHAPITRE VI. — <i>Le facteur lumière</i> (Y. D.)	452
CHAPITRE VII. — <i>Le facteur texture : rôle des argiles</i> (Y. D.)	456
Rappel concernant les argiles et leurs propriétés	456
Conséquences de l'adsorption de composés organiques	458
Conséquences de l'adhésion des micro-organismes	467
Conséquences du pouvoir tampon des argiles	469
Conséquences de l'abaissement du pH à proximité des particules argileuses	470
Conséquences de l'adsorption et de la fixation de l'ion NH_4^+	472
Autres effets encore non ou mal élucidés	472
Influence des fractions non argileuses sur l'activité microbienne du sol	475
CHAPITRE VIII. — <i>Le facteur structure</i> (Y. D.)	476
Microbiologie de l'agrégat	476
Microbiologie de l'édifice structural	483
CHAPITRE IX. — <i>Variations saisonnières</i> (Y. D. et F. M.)	484
CHAPITRE X. — <i>Distribution des micro-organismes et des enzymes</i> (Y. D.)	488
CHAPITRE XI. — <i>Les traitements pesticides</i> (F. M.)	498
Les traitements chimiques	498

Les traitements physiques	511
La recolonisation	521
 QUATRIÈME PARTIE. — <i>Interactions entre la microflore tellurique et la végétation</i>	529
CHAPITRE I. — <i>Interactions entre la microflore tellurique et la végétation au niveau des litières</i> (Y. D.)	531
CHAPITRE II. — <i>Spermosphère et phyllosphère</i> (F. M.)	538
X CHAPITRE III. — <i>La rhizosphère</i> (Y. D.)	548
Méthode d'étude de la rhizosphère	549
Influence de la plante sur les micro-organismes	551
Influence des micro-organismes sur la plante	565
Interactions entre micro-organismes rhizosphériques	575
Facteurs extérieurs influant sur l'effet rhizosphérique	578
Engrais bactériens : bactérisation des non-Légumineuses	586
CHAPITRE IV. — <i>La symbiose Rhizobium-Légumineuse</i> (Y. D.)	595
Mise en évidence de la fixation symbiotique d'azote chez les Légumineuses	596
Premier élément de l'association : la Légumineuse-hôte	597
Deuxième élément de l'association : le <i>Rhizobium</i>	598
L'infection des racines et la nodulation	605
Fixation de l'azote	614
Facteurs extrinsèques influant sur la fixation symbiotique	620
Inoculation (ou bactérisation) des Légumineuses	628
CHAPITRE V. — <i>Symbioses fixatrices en dehors des Légumineuses</i> (F. M.)	635
CHAPITRE VI. — <i>Les associations mycorrhiziennes</i> (F. M.)	656
 CINQUIÈME PARTIE. — <i>Les interactions entre micro-organismes telluriques</i>	677
CHAPITRE I. — <i>Les associations synergiques entre les divers éléments de la microflore</i> (Y. D.)	679
Généralités, principaux modes d'associations synergiques	679
Associations synergiques fixatrices d'azote	682
Autres associations synergiques	684
Influence des conditions écologiques sur les interactions de nature synergique	687

CHAPITRE II. — <i>Les antagonismes entre les divers éléments de la microflore</i> (Y. D.)	689
Manifestations des processus d'antagonisme dans les sols	689
Modifications de la composition de l'atmosphère, du pH et du Eh	695
Compétition	696
Production de substances inhibitrices ou toxiques	701
Prédation et parasitisme	708
Application au contrôle biologique des micro-organismes pathogènes des racines	712
CHAPITRE III. — <i>Interactions de la microflore et de la faune du sol</i> (F. M.)	721
Interactions des Nématodes et de la microflore	722
La mésofaune	727
Les Vers de terre	729
Les Termites	731
Autres Insectes	734
Conclusion	735
CHAPITRE IV. — <i>Successions, chaînes et groupes microfloristiques</i> (Y. D.)	737
Notion de succession	737
Notion de chaîne ou séquence	741
Notion de groupe écologique microfloristique	742
<i>Bibliographie</i>	745
<i>Index alphabétique des matières</i>	783

MASSON ET C^{ie}, ÉDITEURS

120, boulevard Saint-Germain, Paris (VI^e)

Dépôt légal : 2^e trimestre 1970

MARCA REGISTRADA

IMPRIMÉ EN BELGIQUE

PAR GEORGES THONE À LIÈGE

À LA MÊME LIBRAIRIE

PRÉCIS DE PÉDOLOGIE, par Ph. DUCHAUFOR. 3^e édition. 1970.

L'ÉVOLUTION DES SOLS. *Essai sur la dynamique des profils*, par Ph. DUCHAUFOR
1968. 94 pages, 8 figures.

GÉOLOGIE DES ARGILES. *Altération. Sédimentologie. Géochimie*, par G. MILLOT.
1964. 500 pages, 75 figures, 12 planches dont 2 en couleurs, 15 tableaux.

LE PROFIL CULTURAL. *L'état physique du sol et ses conséquences agronomiques*,
par S. HÉNIN, R. GRAS et G. MONNIER. 2^e édition 1969. 332 pages, 28 figures,
65 tableaux, 51 planches.

PRÉCIS DE MICROBIOLOGIE DU SOL, par J. POCHON et Y. T. TCHAN. 1948. 222 pages,
67 figures.

MICROBIOLOGIE DU SOL. *Problèmes et méthodes* (Cinquante ans de recherches), par
S. WINOGRADSKY. 1949. 862 pages, 35 planches.

SOL, MICROFLORE ET VÉGÉTATION. *Equilibres biochimiques et concurrence biolo-
gique*, par B. BOULLARD et R. MOREAU. 1962. 172 pages, 19 planches dont
16 hors texte, 13 figures, 13 tableaux (*Collection Evolution des Sciences*).

RAPPORTS DU SOL ET DE LA VÉGÉTATION (Premier colloque de la Société botanique
de France, juin 1959), sous la direction de G. VIENNOT-BOURGIN. 1960.
184 pages, 10 figures, tableaux.

ASPECTS ET MÉCANISMES DE LA VERNALISATION, par C. PICARD. 1968. 125 pages,
25 figures (*Monographies de botanique et de biologie végétale*).

LES MYCORRHIZES, par B. BOULLARD. 1968. 136 pages, 34 figures, 19 tableaux
(*Monographies de botanique et de biologie végétale*).

LES PHYTOHORMONES DE CROISSANCE, *Méthodes, chimie, biochimie, physiologie,
applications pratiques*, par P. E. PILET. 1961. 774 pages, 293 figures,
84 tableaux.